Hapten-Hemmung der Dextran-induzierten anaphylaktischen Reaktion beim Hund

Caroline Mendler

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0067

Aus dem Institut für chirurgische Forschung

der Universität München

(Direktor: Prof.Dr.Dr.h.c.W.Brendel)

Hapten-Hemmung der Dextran-induzierten anaphylaktischen Reaktion beim Hund

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

der Ludwig Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Caroline Mendler

aus Freiburg

1980

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin

der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. K. Meßmer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12.2.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

		Seite
Inhaltsverzeichnis		I
Abkürzungen		1
A.	Einleitung	2
B.	Material und Methodik	6
1.	Versuchstiere	6
2.	Vorbehandlung der Versuchstiere - Immunisierung	6
3.	Versuchsablauf	7
3.1.	Versuchsvorbereitung	7
3.2.	Gruppeneinteilung	9
3.3.	Verwendete Lösungen	10
3.4.	Messungen hämodynamischer Parameter	10
4.	Laboruntersuchungen	11
4.1.	Blutbild	11
4.1.1.	Thrombozyten und Leukozyten	11
4.1.2.	Bestimmung des Hämatokrit	11
4.1.3.	Hämoglobinbestimmung	11
4.2.	Serologische Untersuchungen zum Nachweis der DRA	11
4.2.1.	Passive Hämagglutination (Mikromethode)	11
4.2.2.	Agargel-Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY	12
5.	Dextran-Challenge am immunisierten wachen Hund (Pilot-Studie)	13
6.	Berechnungen und statistische Auswertungen	14

C. Ergebnisse 15

1. Vorbehandlung der Versuchstiere 15

1.1. Immunologische Ausgangssituation 15

1.2. Immunisierungsverlauf und Ergebnis der Immunisierung 16

2. Ergebnisse der Provokationsversuche 18

2.1. Gruppe I - Provokation mit Dextran 60 18

2.1.1. Hämodynamische Parameter 18

2.1.2. Hämatologische und immunologische Parameter 29

2.2. Gruppe II - Vorinjektion von 5ml Hapten-Dextran vor Applikation von Dextran 60 37

2.2.1. Hämodynamische Parameter 38

2.2.2. Hämatologische und immunologische Parameter 42

2.3. Gruppe III - gleichzeitige Applikation von Hapten-Dextran und Dextran 60 (eingebaute Hapten-Hemmung) 48

2.3.1. Hämodynamische Parameter 48

2.3.2. Hämatologische und immunologische Parameter 53

2.4. Untersuchungen am immunisierten wachen Hund (Pilot-Studie) 58

3. Zusammenfassung der Ergebnisse 65

D. Diskussion 68

1. Pathomechanismen der Dextran-induzierten anaphylaktoiden/anaphylaktischen Reaktion (DIAR) 68

1.1. Präparat-spezifische DIAR-auslösende Faktoren 68

1.1.1. Molekularstruktur,-größe,-gewicht 68

1.1.2. Spurenverunreinigungen 71

1.2. Patienten-bedingte DIAR-auslösende Faktoren 74

1.2.1. Dextran-reaktive Antikörper (DRA) 74

a) reaginische DRA (IgE) 74

b) hämagglutinierende DRA (IgG,IgM) 75

c) Sensibilisierung 80

1.2.2. Komplement-Aktivierung 83

1.2.3. Histamin-Freisetzung 86

1.2.4. Enzym-Defekt (Anaphylatoxin-Inhibitor) 89

2. Möglichkeit einer DIAR-Prophylaxe - Das Hapten-Prinzip 91

2.1. Allgemeine theoretische Grundlagen 91

2.2. Hapten-Hemmung der DIAR am Hund - eigene Untersuchungen 96

2.2.1. Präformierte DRA beim Hund 97

2.2.2. Zur Immunogenität von Edestin-Dextran am Hund 98

2.2.3. Die DIAR am Hund 99

a) Verhalten der Thrombozyten und Leukozyten während der Dextran-induzierten Anaphylaxie 102

b) Verhalten der DRA im Verlauf der DIAR 106

2.2.4. Untersuchungen am wachen Hund 108

2.2.5. Erfolg der Hapten-Hemmung als Prophylaxe der DIAR am Hund. Vergleich der 3 Versuchsgruppen 109

2.2.6. Berechnung der Hapten-Dosierung für 2 verschiedene Applikationsformen 110

a) Vorinjektion von Hapten-Dextran 110

b) gleichzeitige Applikation von Hapten-Dextran und Dextran 60 112

E. Zusammenfassung 114

F. Literaturverzeichnis 116

Abkürzungen

DIAR	Dextran-induzierte anaphylaktoide/anaphylaktische Reaktion
DRA	Dextran-reaktive Antikörper
MAP	mittlerer arterieller Druck (mean arterial pressure)
PAP	Pulmonalarterieller Druck (pulmonary arterial pressure)
PCWP	pulmonalkapillärer Verschlußdruck (pulmonary capillar wedge pressure)
HZV	Herz-Zeit-Volumen
TPR	Peripherer Gesamt-Widerstand (total peripheral resistance)
PVR	Pulmonaler Gefäßwiderstand (pulmonary vascular resistance)
PCA	Passive cutane Anaphylaxie
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
RIST	Radio-Immuno-Sorbent-Test

A. Einleitung

Der Einsatz von Blutersatzmitteln ist aus der modernen Medizin nicht mehr wegzudenken: Die Risiken einer Bluttransfusion und auch die Schwierigkeit,Spenderblut in ausreichendem Umfang zu erhalten,sind die Hauptgründe für den zunehmenden Verbrauch der sogenannten Plasmaexpander.Dextran spielt hierbei eine besondere Rolle,da sich durch einige spezielle physiologische und pharmakologische Eigenschaften dieser Substanz das Indikationsgebiet über die alleinige Volumensubstitution hinaus ständig erweitert hat: So findet Dextran dank seiner Verbesserung der rheologischen Eigenschaften des Blutes,und damit der Strömungsbedingungen der Mikrozirkulation, Einsatz zur Thromboseprophylaxe sowie zur Steigerung der Gewebsdurchblutung bei der Arteriosklerose,der diabetischen Arteriolopathie sowie bei arteriellen Verschlußkrankheiten (8,17,22,30,54,58,99,115,120,121,124,139,162,179,182,191).

Die heute gebräuchlichen klinischen Dextrane,das niedermolekulare Dextran 40 (M_w 40 000) und das höhermolekulare Dextran 60 und 75 (M_w 60/75 000) sind für den menschlichen Organismus nicht immunogen.Dennoch wurden nach der Infusion von Dextran -wie auch bei anderen Kolloiden- anaphylaktoide Reaktionen beobachtet (1,97,105,106,121).Bereits wenige Milliliter genügen dabei zur Auslösung der Reaktion (124).Mit steigendem Verbrauch der kolloidalen Volumenersatzmittel wurde in den letzten Jahren auch eine Häufung unerwünschter Reaktionen registriert.

Erste Mitteilungen über die Häufigkeit und Symptomatik der Dextran-Unverträglichkeit stammen von BAUER und ÖSTLING (9),die über einen Zeitraum von 14 Jahren eigene Fälle und Fallstudien anderer Autoren sammelten.Dabei errechneten die Autoren eine extrem niedrige Inzidenz,da in diese Untersuchung alle unveröffentlichten,unerkannten oder anderen Ursachen zugeschriebenen Fälle nicht eingingen (21,24,35,37,40,42,45,49, 93,123,124,127,168,177,189,190,192,195,196,198,203).
Die erste prospektive Studie von SCHÖNING an der orthopädischen Universitätsklinik Heidelberg erbrachte hingegen eine hohe Inzidenz; die Fallzahl war klein und das Krankengut sehr einseitig selektiert (170).
RING und MEßMER haben 1975 eine prospektive multizentrische Studie durchgeführt,die folgende Ergebnisse brachte: Bei einem Verbrauch von ca. 86 000 Infusions-Einheiten wurden 28 Fälle einer anaphylaktoiden Reaktion beobachtet (163).Dies entsprach einer Inzidenz von 0,032%.Nach Infusion der höhermolekularen Dextrane 60/75 traten diese Reaktionen ungefähr 10-mal häufiger auf als nach niedermolekularem Dextran 40.

Diese Unverträglichkeitsreaktionen wurden in vier Schweregrade eingeteilt: Bei Schweregrad I zeigen die Patienten Hautreaktionen wie Flush und Urtikaria.Schweregrad II ist definiert als leichte,aber deutlich meßbare hämodynamische Reaktion,mit Beteiligung des Respirations- und Magen-Darm-Traktes.Bei Grad III erleiden die Patienten einen lebensbedrohlichen Schock und Bronchospasmus.Grad IV bedeutet Herz- und/oder Atemstillstand (160).

Lebensbedrohliche Zwischenfälle wurden in dieser Studie mit einer Häufigkeit von 0,008% beobachtet.
In tierexperimentellen und weiteren klinischen Untersuchungen sollte der Pathomechanismus dieser Unverträglichkeitsreaktionen aufgeklärt werden.HEDIN und RICHTER konnten bei Patienten mit Dextran-Anaphylaxie die Bedeutung zirkulierender hämagglutinierender Dextran-reaktiver Antikörper (DRA) nachweisen (64,64,165).Sie fanden eine positive Korrelation zwischen der Höhe des DRA-Titers vor der Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktion (DIAR) und dem klinischen Schweregrad der Reaktion.In den sofort nach der Reaktion entnommenen Seren ließen sich keine oder nur sehr niedrige DRA-Titer nachweisen; dies spricht für eine Neutralisation der DRA während der DIAR.
Weder der Hauttest noch die passive Hämagglutination zum Nachweis der DRA erwiesen sich für die Vorraussage einer DIAR als geeignet,da ein positiver Befund beider allein noch nicht ausschlaggebend für die Auslösung einer unverträglichkeitsreaktion ist (8,46,60,65,165).
Um die Wahrscheinlichkeit einer DIAR für den Patienten zu vermindern,konnte man daher bislang nur fordern,zunächst die Indikation für Dextran-Infusionen sehr streng zu stellen.
Bei Anwendung in der Chirurgie soll sie daher erst nach Narkose-Einleitung beginnen,da die DIAR-Häufigkeit unter Narkose eindeutig geringer ist (2,9,41,124).MISGELD und MENDE empfehlen eine sogenannte Probeinfusion,bei der die ersten Tropfen Dextran (5-50ml) langsam einlaufen sollen.Danach

sei die Infusion zu unterbrechen und der Patient zu beobachten (124).Dieser Vorschlag widerspricht der Tatsache,daß immunologsiche Reaktionen dem "Alles-oder-nichts-Gesetz" folgen und daß daher ein Tropfen Dextran für die Auslösung einer schweren DIAR ausreichen kann.

RICHTER konnte 1971 demonstrieren,daß Meerschweinchen,die mit Kaninchen-Antidextran-Serum passiv sensibilisiert waren, nach Provokation mit Dextran 60 eine anaphylaktische Reaktion zeigten.Darüberhinaus konnte er die anaphylaktischen Symptome abschwächen oder sogar verhindern,indem er gleichzeitig mit der Dextran-Provokation monovalentes niedermolekulares Hapten-Dextran injizierte (146).Nachdem damit die Dextran-Anaphylaxie am Meerschweinchen erfolgreich verhindert werden konnte,sollte in der vorliegenden Arbeit geprüft werden,ob auch im Hundemodell,bei dem die Dextran-Reaktion der menschlichen DIAR sehr ähnelt,das Prinzip der Hapten-Hemmung wirksam ist.Dabei waren besonders folgende Fragen zu beantworten:Zunächst sollte der Pathomechanismus der DIAR weiter aufgeklärt werden mit dem Ziel,die Bedeutung spontan vorhandener (präformierter) DRA für die Auslösung einer DIAR zu erfassen.Neu an diesem Versuchsmodell war die Möglichkeit,am Großtier die Kreislaufreaktion während der DIAR zu beobachten und damit die immunologische Reaktion pathophysiologisch quantifizieren zu können.Die zweite Frage war,,ob die Präsenz hoher DRA-Titer allein schon ausschlaggebend für die Auslösung einer DIAR ist.Und schließlich war es zu klären,ob das Prinzip der Hapten-Hemmung für die Entwicklung einer DIAR-Prophylaxe beim Hund anzuwenden sei.

MATERIAL UND METHODIK

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere verwendeten wir 78 erwachsene Bastardhunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 10 und 15 kg.

Zu Beginn der Vorbehandlung wurden die Hunde mit Piperazin-Paste (Therapogen-Werk,München) entwurmt.Zur Staupe-Prophylaxe wurde eine passive Immunisierung mit 0,2 ml/kg KG Stagloban (Behring-Werke,Marburg) i.m. durchgeführt.

2. Vorbehandlung der Versuchstiere - Immunisierung

Um bei den Versuchstieren Titer Dextran-reaktiver Antikörper (DRA) zu erhalten,die denjenigen bei Patienten vor einer Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktion (DIAR) entsprechen,wurde folgende Vorbehandlung durchgeführt:

Die Hunde wurden innerhalb eines Zeitraumes von 4 Wochen aktiv immunisiert durch 3-malige intraglutäale Injektion einer Emulsion von 0,1 mg/kgKG Edestin-Dextran zusammen mit 1ml komplettem FREUND'schen Adjuvans.Edestin-Dextran ist ein Protein-Dextran-Konjugat,das von uns verwendet wurde, da klinisch übliches Dextran allein nicht immunogen wirkt.Das Konjugat wurde uns freundlicherweise von Dr.W.Richter (Pharmacia, Uppsala) überlassen.Vor jeder Immunisierung wurden 10 ml Venenblut entnommen,um die DRA-Titer mittels passiver Hämagglutination nach HÄMMERLING und WESTPHAL (60) zu bestimmen. Die Versuche wurden 1-2 Wochen nach der letzten Immunisierung vorgenommen.(Abb.1)

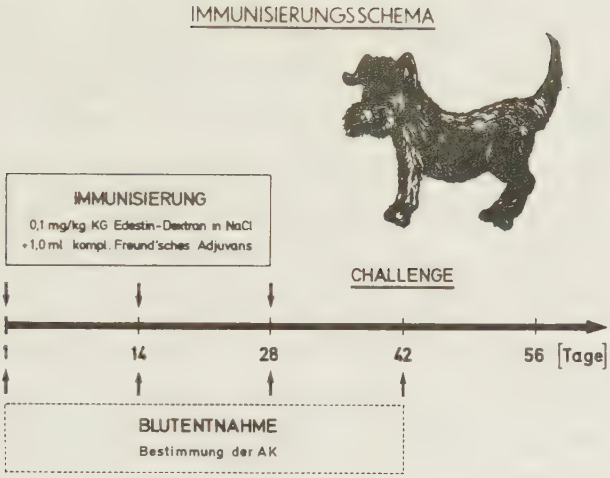


Abb.1: *Immunisierungsschema.(AK : Antikörper)*

3. Versuchsablauf

3.1. Versuchsvorbereitung

Nach Prämedikation mit 0,5 ml Thalamonal^R (Firma Janssen, Düsseldorf) und 0,5 mg Atropinsulfat (Delta-Pharma,Pful - lingen) wurden die Hunde durch intravenöse Injektion von 20 - 25 mg/kgKG Pentobarbital-Natrium (Nembutal^R,Fa.Abbott, Ingelheim) narkotisiert.Anschließend wurden sie in Rückenlage fixiert und endotracheal intubiert.Unter sterilen Kautelen und Röntgenkontrolle wurden bei Spontanatmung eines O_2-Luftgemischs folgende Katheter gelegt: Über die Vena jugularis dextra wurde ein SWAN-GANZ-Ballonkatheter zur Bestimmung des Pulmonalarteriendruckes (PAP) und des

pulmonalen kapillaren Verschlußdruckes (pulmonary capillary wedge pressure,PCWP) in einen Ast der Arteria pulmonalis geschoben. Zur Bestimmung des Herz-Zeit-Volumens (HZV) wurde über die Vena jugularis sinistra ein Katheter in den rechten Vorhof,sowie ein Thermistor über die Arteria carotis in die Aorta ascendens eingeführt.Zur Registrierung des mittleren arteriellen Druckes (MAP) wurde in die Arteria femoralis sinistra ein Polyäthylen-Katheter gelegt;um einen venösen Zugang für Blutentnahmen und die Injektionen von Dextran,bzw.Hapten zu haben,wurde in die Vena femoralis sinistra ebenfalls ein Polyäthylen-Katheter eingeführt.

Nachdem die Tiere mit 4mg/kgKG Succinylcholin (Lysthenon^R, Lentia GmbH,München) relaxiert waren,wurden sie über eine Starling-Druckpumpe mit einem Raumluft-Sauerstoff-Gemisch (30% O_2) künstlich beatmet.Der endexpiratorische CO_2-Partial-Druck wurde über Uras (Ultrarotabsorptionsschreiber,Fa.Hartmann und Braun,Frankfurt) kontrolliert bei 40mmHg gehalten.

Die II.Extremitätenableitung wurde über Nadelelektroden auf einem Monitor (Zweistrahl-Sichtgerät mit EKG-Verstärker, Mela GmbH,München) registriert.

Der nach Versuchsvorbereitung negative Base Excess (BE) wurde entsprechend der Formel

$$BE \times 0{,}3 \times kgKG$$

durch intravenöse Injektion von 8,4%-igem Natriumbikarbonat (Fa. B.Braun,Melsungen) ausgeglichen.

Nach Beendigung der Vorbereitung und bei stabilem Kreislauf erfolgte die Messung der Ausgangswerte.

3.2. Gruppeneinteilung

Die Hunde wurden randomisiert folgenden 3 Gruppen zugeteilt (s.Abb.2):

Die Tiere der Gruppe I (Kontrollgruppe) erhielten nach Messung der Ausgangswerte 1ml Dextran 60 intravenös,nach 10 Minuten eine Infusion von Dextran 60 in klinisch üblicher Dosierung von 7ml/kgKG über einen Zeitraum von 20 Minuten.

Bei Gruppe II wurden den Hunden 5ml monovalentes Hapten-Dextran zum Zeitpunkt 0 als Bolus i.v. injiziert,5 Minuten später erfolgte die Provokation mit 1ml Dextran 60, anschließend ebenfalls eine Infusion mit 7ml/kgKG Dextran 60.

In der Gruppe III wurde Hapten-Dextran gleichzeitig (sog. "eingebaute" Hapten-Hemmung) mit Dextran 60 innerhalb von 20 Minuten infundiert.Hierfür wurden 20ml einer 15%-igen Hapten-Dextran-Lösung zu 500ml Dextran 60 zugegeben und vor Infusion 60 Minuten bei 37°C im Wasserbad gemischt. Auch in dieser Gruppe betrug die Dextran 60-Dosis 7ml/kgKG.

Die Blutentnahmen zur Bestimmung der Dextran-reaktiven Antikörper (DRA) und die Messungen der hämodynamischen Parameter erfolgten jeweils vor und nach der Applikation von Hapten-Dextran,bzw. Dextran 60.

Nach Beendigung des Versuchs wurden die Tiere durch intravenöse Injektion einer KCl-Lösung getötet.

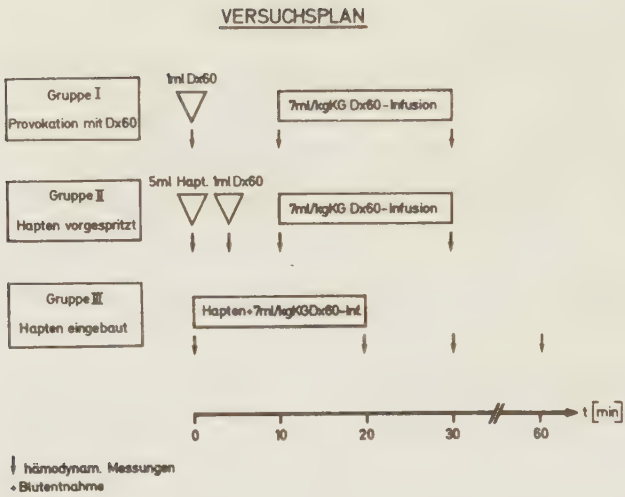


Abb.2: Versuchsplan - Gruppeneinteilung.

3.3. Verwendete Lösungen

Als Hapten-Dextran-Lösung diente ein monovalentes 15%-iges Hapten-Dextran (batch N° FDR 62304),das uns freundlicherweise von Dr.W.Richter (Pharmacia AB,Uppsala) überlassen wurde.Als Dextran 60 verwendeten wir Macrodex 6% (Fa.Knoll AG, Ludwigshafen).

3.4. Messungen hämodynamischer Parameter

a) arterieller Mitteldruck (MAP)
b) mittlerer Pulmonalarterien - druck (PAP)
c) pulmonaler kapillärer Ver - schlußdruck (PCWP)

} Registrierung über Statham-Elemente (Fa. Statham Instruments, Oxnard,California)

d) Herzfrequenz (HF): Registrierung über Herzfrequenz-Monitor (Fa.Mela, München).

e) Herz-Zeit-Volumen (HZV): Thermodilutionsprinzip (A.Fischer KG,Göttingen)

4. Laboruntersuchungen

4.1. Blutbild

4.1.1. Die Bestimmungen der Thrombozyten- und Leukozytenzahlen erfolgten in der Neubauer-Zählkammer.

4.1.2. Der Hämatokrit wurde in heparinisierten Mikrohämatokritröhrchen (Hawksley & Sons lim.,London) nach Zentrifugieren (5min. bei 5000 U/min.) in der Hämatokrit-Zentrifuge (Micro rapid,Fa. Hettich,Tuttlingen) abgelesen.

4.1.3. Die Hämoglobinwerte wurden photometrisch (Eppendorf-Photometer) nach der Cyanhämiglobinmethode bestimmt.

4.2. Serologische Untersuchungen zum Nachweis der DRA

4.2.1. Passive Hämagglutination (Mikromethode)

Nach der von HÄMMERLING und WESTPHAL (60) beschriebenen Methode wird das Antigen (B 512-Dextran,MW 70 000) über einen O-Stearoylrest an die Erythrozytenoberfläche gebunden.Der Substitutionsgrad beträgt hierbei 1 Stearoyl-Gruppe auf 20 Glukose-Einheiten.Nach 3-maligem Waschen der Hunde-Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung wurden je 0,2ml Erythrozyten mit 1mg O-Stearoyl-Dextran in 10ml NaCl

bei 37°C für 30min. inkubiert.Nach erfolgter Sensibilisierung wurden die Erythrozyten erneut 3x gewaschen,um den O-Stearoyl-Dextran-Überschuß zu entfernen.Auf Einmalplatten mit 8x12 U-förmigen Vertiefungen (Mikrotiterplatten,u-shaped,Fa.Cooke,USA) wurde nach Vorlage von je 0,05ml NaCl eine Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Serums hergestellt.Je 0,05ml einer 2%-igen in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Suspension sensibilisierter Erythrozyten wurden zu den 0,05ml des verdünnten Antiserums gegeben,erneut für 30min. bei 37°C inkubiert und anschließend zur besseren Sedimentierung 30min. bei 4°C im Kühlschrank gehalten.Die Ablesung erfolgte nach 2 und 24 Stunden.

Als Negativ-Kontrolle dienten unbeladene Hunde-Erythrozyten,als Positiv-Kontrolle ein standardisiertes Anti-Dextran-Hunde-Serum.

Titerstufen-Einteilung:

Verdünnung	unverd.	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32 etc.
Titerstufe	0	1	2	3	4	5	6

4.2.2. Agargel-Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY

In eine auf Objektträger möglichst gleichmäßig aufgetragene Schicht von 1,5% Agarose werden um ein zentrales Serum-Reservoir (Ø 6mm) in Abständen von 7,5mm mit einem Stempel 6 kleinere Löcher gestanzt,die als Reservoir für verschiedene Verdünnungen des Antigens dienen.Vor dem Aufkochen wurde der Agar zur Desinfektion mit einer Spatelspitze

Cialit^{R} (Asid-Institut,München)versetzt.Zur Erleichterung der Präzipitation wurden dem Agar außerdem 1% Polyäthylenglykol (PEG 6000,Fa. Serva Feinbiochemika,Heidelberg) zugefügt.Zentral wird das zu untersuchende unverdünnte Serum eingefüllt.Das Spektrum der Antigen-Verdünnungen betrug 500-15 µg/ml.Nach einer Diffusionszeit von 48 Stunden in einer feuchten Kammer unter dem Zusatz des Bakteriostatikums Thymol erfolgte die erste Ablesung.Danach wurden die Platten in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit Amidoschwarz gefärbt.Der nicht-gebundene Farbstoff wurde mit Methanol-Eisessig (9:1) ausgewaschen.Nach dem Trocknen der Objektträger erfolgte die 2.Ablesung (134,135).

5. Dextran-Challenge am immunisierten wachen Hund (Pilot-Studie).

Um das klinische Bild einer intravenösen Dextran 60 -Provokation nach erfolgter Immunisierung (vgl.Schema,Abb.1) ohne Narkoseeinfluß zu untersuchen,wurden bei 8 Hunden 1-2 Wochen nach der letzten Immunisierung Versuche im Wachzustand durchgeführt.

Den Hunden wurden zunächst 1ml Dextran 60,nach 8-12 min. weitere 10ml Dextran 60 intravenös injiziert.Unter EKG-Kontrolle wurde der klinische Zustand der Tiere beobachtet. Blutentnahmen erfolgten vor der ersten Dextran-Gabe,sowie jeweils 2min. nach Provokation mit 1ml/bzw.10ml Dextran 60. Bei 2 Hunden wurde in Lokalanästhesie (Scandicain,Fa.

Astra Chemicals GmbH,Wedel) ein arterieller Katheter zur Registrierung des arteriellen Blutdruckes gelegt;die Messungen erfolgten zum Zeitpunkt der Blutentnahmen.

6. Berechnungen und statistische Auswertungen.

Folgende Größen wurden aus den gemessenen Parametern berechnet:

a) Peripherer Gesamtwiderstand (Total peripheral resistance, TPR):

$$TPR = \frac{MAP - RAP}{HZV}$$

b) Pulmonaler Strömungswiderstand (Pulmonary vascular resistance,PVR):

$$PVR = \frac{PAP - PCWP}{HZV}$$

Für alle Daten wurden die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM) berechnet.Die statistische Prüfung erfolgte mittels Student-t-Test,Fischer und χ^2-Test.

ERGEBNISSE

1. Vorbehandlung der Versuchstiere - Immunisierung

1.1. Immunologische Ausgangssituation

Vor Beginn der ersten Immunisierung wurden bei allen Versuchstieren die Titer präformierter Dextran-reaktiver Antikörper (DRA) im Serum ermittelt.

Wie Abbildung 3 veranschaulicht,wiesen die meisten Tiere (n=54) präformierte DRA auf,bei der Mehrzahl dieser Hunde (n=38) fanden sich sogar ausgesprochen hohe Titer um einen Mittelwert von Titerstufe 7 (das entspricht einem positiven

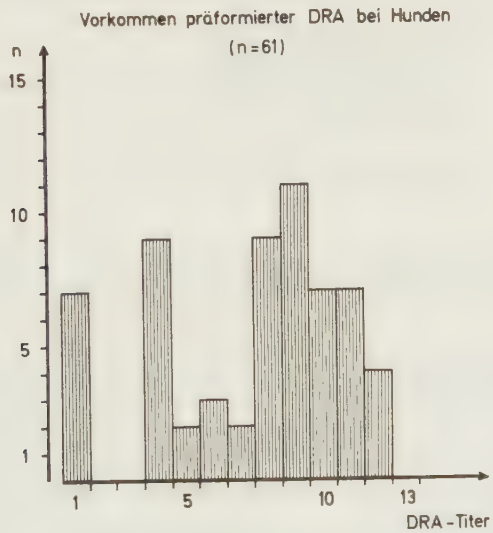


Abb.3: Vorkommen präformierter DRA bei 61 Bastardhunden.

Ergebnis bei einer Serumverdünnung von 1:64).Nur bei 7 Hunden ließen sich keine DRA nachweisen.

Folgerung:

Bereits vor der ersten Dextran-Applikation finden sich bei einem hohen Prozentsatz der Hunde,ähnlich wie bei Patienten,präformierte DRA.

Anmerkung:

Die Zahl n=61 entspricht nur den von uns selbst immunisierten Hunden.Die zur Zahl n=70 (Versuche am narkotisierten Hund) fehlenden 9 Tiere wurden freundlicherweise von Dr.Schwarz (Knoll AG,Ludwigshafen) immunisiert.Da uns von diesen Tieren kein Serum vor der Immunisierung oder während des Immunisierungsverlaufs vorliegt,konnten hier die DRA-Titer erst nach erfolgter Immunisierung bestimmt werden.

1.2. Immunisierungsverlauf und Ergebnis der Immunisierung

Das Ergebnis der Immunisierung,d.h. die Antwort auf die Frage der Immunogenität von Edestin-Dextran beim Hund,macht Abbildung 4 deutlich: Der Erfolg der Immunisierung verhält sich umgekehrt proportional zur Höhe des Ausgangstiters (AT). Das untere Diagramm zeigt,daß die 18 Hunde,die keine oder nur in geringem Ausmaß präformierte DRA (AT:Titerstufe 0-5) aufwiesen,mit einer sehr starken Immunantwort reagierten:Die Titer stiegen um 4-13 Titerstufen an.Im Gegensatz dazu

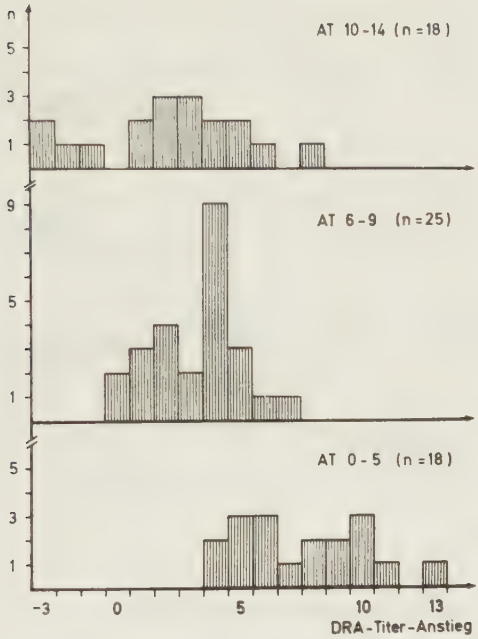


Abb.4: *DRA-Titer-Anstieg im Verlauf der Immunisierung im Verhältnis zum Ausgangstiter (AT) bei 61 Hunden.*

war der DRA-Titer-Anstieg der Hunde mit einem mittleren DRA-Ausgangstiter (AT 6-9,s.mittleres Diagramm) deutlich geringer,er bewegte sich zwischen 0 und 7 Titerstufen.Am schwächsten reagierten die Tiere mit ausgesprochen hohem Ausgangstiter (AT 10-14,s.oberes Diagramm),bei einigen von ihnen fiel der Titer sogar leicht ab.

Folgerung:

a) Edestin-Dextran ist am Hund immunogen,es löst mit der Bildung Dextran-reaktiver Antikörper eine deutliche Immunantwort aus.

b) Die Stärke der Immunantwort ist abhängig von der immunologischen Ausgangssituation der Hunde.Sie verhält sich umgekehrt proportional zur Höhe des Ausgangstiters präformierter DRA.

c) Mit positivem Ergebnis bei Verdünnungsstufe 9-16 entsprachen die DRA-Titer unserer Versuchstiere am Ende der Immunisierung denjenigen bei Patienten vor Auftreten einer Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktion (DIAR).

2. Ergebnisse der Provokationsversuche

2.1. Gruppe I - Provokation mit Dextran 60

2.1.1. Hämodynamische Parameter

Wie im Kapitel "Methodik" bereits im Einzelnen dargestellt, wurden die Versuchstiere 1-2 Wochen nach der letzten Immunisierung zunächst narkotisiert und künstlich beatmet.Die Hunde der Kontrollgruppe (Gruppe I) erhielten anschließend als Provokation 1ml Dextran 60 intravenös injiziert.

Abbildung 5 zeigt einen typischen Versuchsablauf einer schweren anaphylaktoiden Reaktion nach Applikation von Dextran 60.Die intravenöse Gabe von 1ml Dextran 60 löst einen massiven Abfall des arteriellen Blutdrucks (s.obere Kurve) aus,während der Druck im Atemsystem (s.mittlere Kurve) und

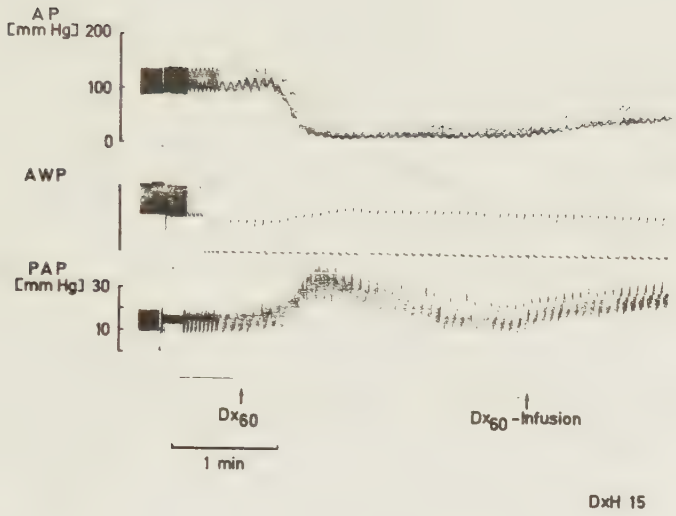


Abb.5: Hämodynamischer Verlauf einer schweren anaphylaktoiden Reaktion beim Hund auf Provokation mit Dx 60:

a) obere Kurve: arterieller Blutdruck

b) mittlere Kurve: Druck im Atemsystem

c) untere Kurve: Pulmonalarteriendruck

Zunächst Provokation mit 1ml Dextran 60;nach 10 min. Infusion von 7ml/kgKG Dextran 60.

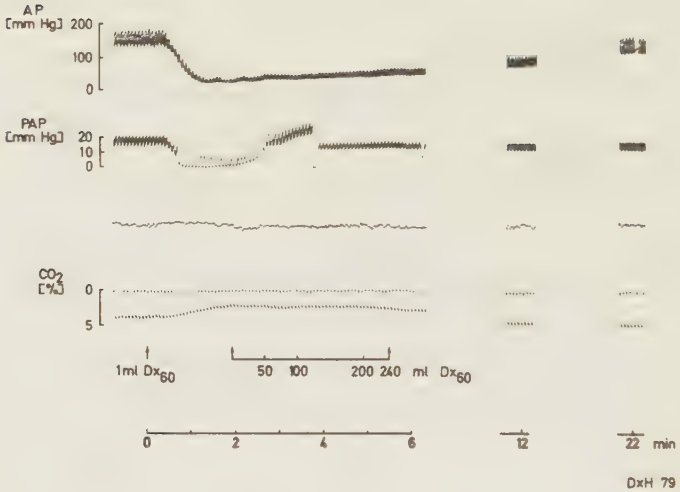


Abb.6: *Beispiel einer schweren DIAR beim Hund.*

a) obere Kurve: arterieller Blutdruck

b) mittler Kurve: Pulmonalarteriendruck

c) untere Kurve: endexspiratorische CO_2-Konzentration

Die Infusion von Dextran 60 wurde so gesteuert, daß ein Anstieg des PAP über 40mmHg vermieden werden konnte.

der Pulmonalarteriendruck (s.untere Kurve) ansteigen.Nach schneller Infusion von 200ml Dextran 60 erholte sich dieses Tier innerhalb einer halben Stunde,wie es hier in dem langsamen Wiederanstieg des arteriellen Druckes im Kurvenverlauf zu sehen ist.Ein weiteres,ähnlich verlaufendes Beispiel ist in Abbildung 6 dargestellt.

Tabelle 2: Schweregradeinteilung der DIAR beim Hund.

Schweregrad	klinische Reaktion	
++++	Δ-MAP > 70mmHg	Δ-PAP > 100%
+++	Δ-MAP $\geqq$ 70mmHg	Δ-PAP < 100%
++	Δ-MAP < 70mmHg	Δ-PAP < 5mmHg
+	Δ-MAP < 30mmHg	Δ-PAP < 5mmHg
0	keine Reaktion	

Da die Provokation mit 1ml Dextran 60 auch bei Hunden anaphylaktoide Reaktionen unterschiedlichen Ausmaßes hervorrief,vergleichbar der klinischen Reaktion,führten wir hier, wie RING und MEßMER bei Patienten mit DIAR (162),ebenfalls eine Einteilung in vier Schweregrade durch (vgl.Tab.2),beruhend auf dem Abfall des mittleren arteriellen Blutdruckes und dem Anstieg des Pulmonalarteriendruckes als Hauptkriterien.

Für die folgenden Darstellungen haben wir dieses Schema zur besseren Übersicht noch etwas vereinfacht (s.Tab.3),und die schweren Reaktionen (+++/++++) als Untergruppe A zusammengefaßt,leichte(+/++) als Untergruppe B; Untergruppe C repräsentiert Tiere,die keine Reaktion (O) zeigten.

Tabelle 3: Schweregradeinteilung der DIAR bei Hunden,vereinfachtes Schema für alle folgenden Abbildungen.

A	schwere Reaktion (+++/++++)
B	leichte Reaktion (+/++)
C	keine Reaktion (O)

Aus Tabelle 4 (MAP,PAP in mmHg, HZV in ml/kgKG min) und Abb.7 (MAP,PAP,HZV in % des Ausgangswertes) wird deutlich,daß die Hunde mit einer schweren DIAR (A) einen massiven Abfall des arteriellen Mitteldruckes (MAP,s.Abb.7,oberes Diagramm) zeigen; 2min. nach Provokation mit Dextran 60 ist er im Durchschnitt auf 43,8% ± 7,2 des Ausgangswertes gesunken. Am Ende der Versuchszeit (30min.) hat er sich bis auf 80,7% ± 5,5 erholt,also noch nicht wieder den Ausgangswert erreicht. Bei einer leichten DIAR (B) ist der Druckabfall deutlich schwächer ausgeprägt,der MAP beträgt 2 min. nach Dextran-Gabe 80,8% ± 6,8 und liegt zu Versuchsende im Bereich des Kontrollwertes (97,5% ± 3,8).Der Definition unserer Schweregradeinteilung entsprechend,ändert sich der MAP bei den nicht-reagierenden Tieren (C) nicht (99,0% ± 1,6 und 101,5% ± 0,99).

Tabelle 4: Veränderungen des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP), des Pulmonalarteriendruckes (PAP) und des Herz-Zeit-Volumens (HZV) bei Versuchstieren der Kontrollgruppe (A:n=10, B:n=6, C:n=11)

			I	II	III	IV
MAP (mmHg)	A	$\bar{x}$	136,5	60,0	83,0	109,5
		$s_{\bar{x}}$	3,9	9,5	6,0	6,8
	B	$\bar{x}$	118,0	96,7	103,0	115,0
		$s_{\bar{x}}$	9,9	13,9	12,7	11,7
	C	$\bar{x}$	133,0	130,0	127,0	128,0
		$s_{\bar{x}}$	7,5	6,3	8,3	8,5
PAP (mmHg)	A	$\bar{x}$	13,8	22,7	24,2	20,3
		$s_{\bar{x}}$	0,6	3,4	3,1	2,4
	B	$\bar{x}$	12,0	17,0	14,2	14,3
		$s_{\bar{x}}$	1,5	2,9	1,9	1,3
	C	$\bar{x}$	11,2	13,2	14,0	13,6
		$s_{\bar{x}}$	1,8	1,8	1,2	1,4
HZV (ml / kgKG min)	A	$\bar{x}$	176,0	70,6	142,0	239,0
		$s_{\bar{x}}$	19,6	16,1	18,2	29,4
	B	$\bar{x}$	165,0	141,0	141,0	179,0
		$s_{\bar{x}}$	18,4	28,2	31,4	30,4
	C	$\bar{x}$	189,4	205,0	215,0	248,0
		$s_{\bar{x}}$	17,4	14,3	17,8	27,8

Meßpunkte:

I Kontrollmessung vor Dextran-Injektion

II 2 min. nach Dextran-Injektion

III 10 min. nach Dextran-Injektion

IV 30 min. nach Dextran-Injektion

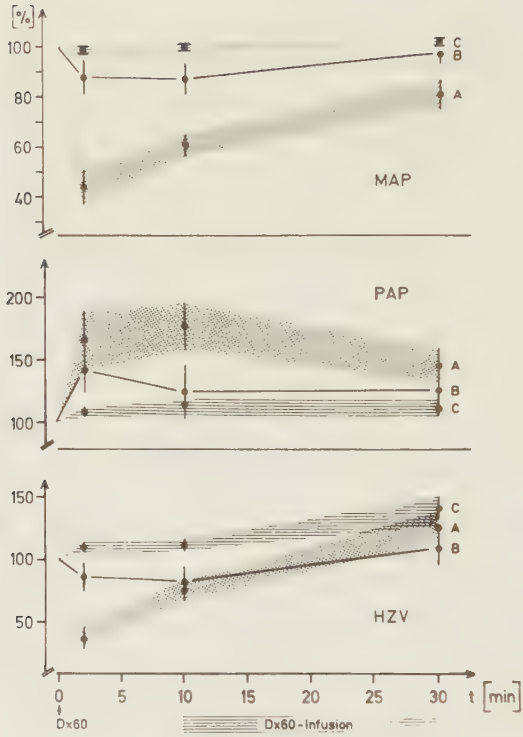


Abb.7: Verhalten des MAP (oberes Diagramm),des PAP (mittleres Diagramm) und des HZV (unteres Diagramm) von Tieren der Untergruppen A,B und C der Kontrollgruppe (Änderungen in % der Ausgangswerte vor Injektion von 1ml Dextran 60;A:n=1, B:n=6,C:n=11).

Ebenso deutliche Unterschiede zeigen sich für den Pulmonalarteriendruck (PAP,s.Abb.7,mittleres Diagramm):Bereits 2 min. nach i.v. Gabe von Dextran 60 ist der PAP bei den Tieren mit schwerer Reaktion auf 165% ± 25,6 gestiegen, beim 10 min.-Wert ist ein leichter Weiteranstieg auf 177%

± 20,5 zu verzeichnen,bis zum 30min.-Zeitpunkt ein allmählicher Rückgang auf 146% ± 14,7.Dabei wirkt die Infusion von 7ml/kgKG Dextran 60 dem Abfall des PAP auf den Ausgangswert (100%) entgegen.Bei Gruppe B findet sich anfänglich auch ein deutlicher Anstieg (143% ± 17,7),hier normalisiert sich der Druck aber rascher,nach 10 min. liegt er bei 125% ± 21,9;die Änderungen bei Gruppe C sind nur geringfügig,wir sehen einen leichten Anstieg des PAP auf 109% ± 4,6,der sich durch die Dextran-Infusion noch auf 113% ± 6,2 steigert.

Auch aus den Veränderungen der für das Herz-Zeit-Volumen (HZV,s.Abb.7 unteres Diagramm) ermittelten Werte läßt sich ein deutlich unterschiedliches Verhalten der Tiere in Abhängigkeit vom Schweregrad der Reaktion ablesen.Die Hunde mit schwerer Reaktion (A) zeigen 5 min. nach Dextran-Injektion einen Abfall des HZV auf 36,7% ± 9,6 des Ausgangswertes; nach 10min. ist bereits ein Wiederanstieg auf 76,5% ± 8,6 zu verzeichnen.Aufgrund der Infusion werden dann zu Versuchsende Werte von 130% ± 12,2 erreicht.Bei den Hunden mit schwacher Reaktion findet sich auch nur eine leichte Veränderung des HZV,es sinkt im Verlauf von 10 min. auf 83,2% ± 13,8 ab und erreicht nach weiteren 20 min. mit 110% ± 14,5 Werte leicht über dem Ausgangswert.In Gruppe C finden sich wieder die schwächsten Veränderungen.Hier steigen die HZV-Werte während der Infusion von 7ml/kgKG Dextran 60 auf 141% ± 11,6 des Ausgangswertes an.

Die Veränderungen des pulmonalen kapillaren Verschlußdruckes (PCWP) laufen denen des PAP nahezu parallel (s.Tab.5).Wir finden zunächst bei Gruppe A einen deutlichen Anstieg um im Mittel 34%.Das Maximum von 8,9mmHg ist beim 10 min.-Wert erreicht,dieser Wert hält sich bis zu Versuchsende.In Gruppe B steigt der PCWP zwei Minuten nach Dextran-Provokation auf 154% ± 25,2,ist aber mit 113% ± 31,5 schon nach 10 min. wieder fast normalisiert;dieser Wert ändert sich bis zum 30 min.-Zeitpunkt nicht mehr (111% ± 27,2).Die Tiere der Gruppe C zeigen über die gesamte Versuchsdauer hinweg einen leichten Anstieg des PCWP auf 125% ± 10,4.

Tabelle 5: Pulmonaler kapillarer Verschlußdruck (PCWP) bei den Versuchstieren der Gruppe I.

		I	II	III	IV
Gruppe A	$\bar{x}$	5,8	7,9	8,9	8,9
(n=10)	$s_{\bar{x}}$	0,5	1,4	1,6	2,0
Gruppe B	$\bar{x}$	4,5	7,7	5,1	5,2
(n=6)	$s_{\bar{x}}$	0,9	0,9	1,6	2,0
Gruppe C	$\bar{x}$	4,8	5,7	5,9	5,8
(n=11)	$s_{\bar{x}}$	0,7	0,5	0,2	0,7

Die Veränderungen des peripheren Gesamtwiderstandes (total peripheral resistance,TPR) unterscheiden sich bei den Tieren mit Reaktionen unterschiedlicher Schweregrade nicht signifikant

(s.Abb.8,oberes Diagramm).Sowohl in Gruppe A als auch in Gruppe B findet sich 2 min. nach Dextran-Injektion ein leichter Anstieg (118% ± 26,$p < 0,2$/bzw.128% ± 21,3,$p < 0,35$).Bei den Hunden mit einer schweren Reaktion fallen die TPR-Werte bis zur 10 min.-Messung auf 81% ± 10,8 ($p < 0,1$) ab und betragen zu Versuchsende 64% ± 9,4 ($p < 0,005$) der Kontrollwerte,während bei einer leichten Reaktion wieder Ausgangswerte erreicht werden.

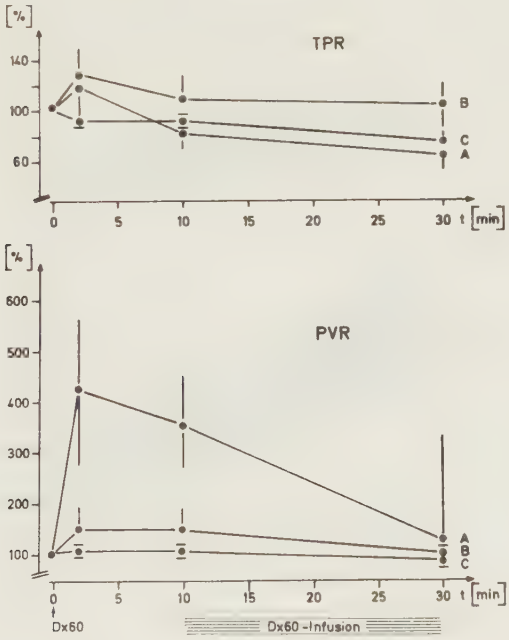


Abb.8: Veränderungen des peripheren Gesamtwiderstandes (TPR) und des pulmonalen Gefäßwiderstandes (PVR) bei Tieren der Gruppe I (in % der Ausgangswerte vor Injektion von 1ml Dx 60).

In Gruppe C unterliegt der TPR nur geringen Schwankungen, bei 2 und 10 min. liegt er bei 91% ± 4,1/bzw.4,6 und fällt während der Infusion langsam auf 75,7% ± 6,6 ab.
Beim pulmonalen Widerstand (pulmonary vascular resistance, PVR) finden wir wieder deutliche Unterschiede je nach Ausmaß der Reaktion (s.Abb.8,unteres Diagramm).Bei den Tieren mit ausgeprägter Reaktion (A) steigt der PVR nach Dextran-Applikation steil an,er erreicht Werte von 422% ± 142 ($p<0,05$) und kehrt dann allmählich zum Ausgangswert zurück.Bei leichten Reaktionen zeigt sich ein sehr viel schwächerer Anstieg, das Maximum von 150% ± 39,4% ($p<0,15$) ist nach 10 min. erreicht,nach 30 min. werden auch hier für den pulmonalen Widerstand wieder Ausgangswerte gemessen (101% ± 6,5).Bei den Tieren der Gruppe C bleibt der PVR praktisch unverändert.
Die Herzfrequenz (HF,s.Tab.6) ist schon vor Injektion von Dextran 60 bei allen Versuchstieren gegenüber den Normalwerten deutlich erhöht,sie schwankt zwischen 148 und 163 min^{-1}. Unabhängig vom Ausmaß der DIAR findet sich bei allen Tieren während der gesamten Versuchsdauer keine signifikante Änderung der Herzfrequenz.

Tabelle 6: Herzfrequenz ($min.^{-1}$) bei Tieren der Gruppe I.

			I	II	III	IV
A	(n=10)	$\bar{x}$	155	139	143	164
		$s_{\bar{x}}$	8,8	8,3	7,7	8,3
B	(n=6)	$\bar{x}$	148	157	162	157
		$s_{\bar{x}}$	9,3	8,5	8,0	6,9

		I	II	III	IV
C (n=11)	$\bar{x}$	163	163	160	158
	$s_{\bar{x}}$	6,7	6,3	5,5	5,9

2.1.2. Hämatologische und immunologische Parameter

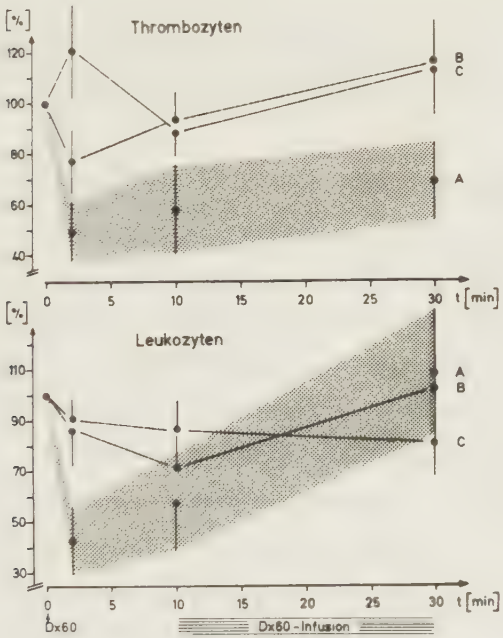


Abb.9: Veränderungen der Thrombozytenzahlen (oberes Diagramm) und der Leukozytenzahlen (unteres Diagramm) nach Provokation mit 1ml Dextran 60 bei den Versuchstieren der Gruppe I (in % der Ausgangswerte vor Injektion von 1ml Dx 60).

Das obere Diagramm der Abb.9 zeigt die Beteiligung der Thrombozyten an der Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktion.Bei den Hunden,die auf die Dextran-Provokation sehr heftig reagieren (A),sehen wir eine deutliche Senkung der Thrombozytenzahlen schon 2min. nach Applikation von 1ml Dextran 60 auf ca. 50% ($p<0,01$) des Ausgangswertes.Innerhalb der Versuchszeit erreichen die Thrombozytenzahlen nicht mehr den Ausgangswert,sie steigen langsam auf 69,3% $\pm$ 16,5 an.Bei den schwach- (B) und nicht-reagierenden (C) Tieren finden wir keine signifikanten Änderungen der Thrombozytenzahlen.

Bei den Leukozyten (Abb. 9,unteres Diagramm) kommen wir zu ähnlichen Ergebnissen: Innerhalb von 2min. nach Provokation mit Dextran 60 sinken die Leukozytenzahlen bei den Hunden der Gruppe A auf 42,5% $\pm$ 12,8 ($p<0,05$).Im Gegensatz zu den Thrombozyten haben sich die Werte aber bis zu Versuchsende wieder völlig erholt (106% $\pm$ 25,2).Bei den Tieren mit leichter Reaktion fallen die Leukozytenzahlen innerhalb von 10 min. auf 71% $\pm$ 15,7 ($p<0,1$) ab und haben nach 30min. wieder die Ausgangswerte erreicht (97,6% $\pm$ 34,2).In Gruppe C finden wir 2 und 10 min. nach Dextran-Injektion keine signifikanten Änderungen der Leukozytenzahlen,nach 30min. sind sie aufgrund des Verdünnungseffektes der Dextran-Infusion allmählich auf 82% $\pm$ 13,8 gesunken.

Das Absinken der Leukozytenzahl ist demnach ein empfindlicher Indikator für das Ausmaß der klinischen Reaktion.

Von der klinischen Reaktion unbeeinflußt bleiben die Hämoglobinkonzentration und der Hämatokrit. Wie aus Tabelle 7 ersichtlich liegen die Ausgangswerte außer bei Gruppe B mit leicht erniedrigten Werten (kleinere n-Zahl!) im Normbereich. Die leichte Abnahme sowohl der Hämoglobinkonzentration als auch des Hämatokrit während des Versuchs ist der Verdünnung durch die Infusion zuzuschreiben.

Die wohl interessanteste Frage unserer Untersuchungen, nämlich nach dem Verhalten der Dextran-reaktiven Antikörper

Tabelle 7: Hämoglobinkonzentration (Hb) und Hämatokrit bei Versuchstieren der Gruppe I.

			I	II	III	IV
Hb (g%)	A (n=10)	$\bar{x}$	12,0	11,6	10,3	10,0
		$s_{\bar{x}}$	1,0	1,0	0,9	1,0
	B (n=6)	$\bar{x}$	9,9	10,0	9,7	9,5
		$s_{\bar{x}}$	0,7	0,5	0,5	0,7
	C (n=11)	$\bar{x}$	12,1	12,2	11,6	11,4
		$s_{\bar{x}}$	0,6	0,5	0,6	0,4
Hk (%)	A	$\bar{x}$	35,5	34,4	31,0	30,2
		$s_{\bar{x}}$	2,6	2,5	2,4	2,5
	B	$\bar{x}$	28,8	28,6	28,1	26,5
		$s_{\bar{x}}$	2,0	1,4	1,0	1,8
	C	$\bar{x}$	34,8	34,9	32,7	32,8
		$s_{\bar{x}}$	1,5	1,6	1,7	1,2

Meßpunkte:

I Kontrollmessung vor Dextran-Injektion

II 2 min. nach Dextran-Injektion

III 10 min. nach Dextran-Injektion

IV 30 min. nach Dextran-Injektion

während der Provokation mit dem Antigen, wird anhand der Tabelle 8 beantwortet. Die immunologische Ausgangssituation im Hinblick auf DRA unterscheidet sich zu Beginn des Versuchs bei den 3 Untergruppen A, B und C der Kontrolltiere nicht signifikant. Während des Versuchs zeigen sich dann aber deutliche Unterschiede, die auch wieder mit dem Schweregrad der Reaktion korrelieren: Die schwersten Reaktionen traten bei den Hunden mit den höchsten DRA-Titern auf. Bei Gruppe I_B und I_C betrug die Antikörperkonzentration zu Beginn des Versuchs nur ca. 1/4 derjenigen bei Gruppe I_A (das entspricht zwei Verdünnungsschritten weniger in der passiven Hämagglutination). Während des Versuchs kommt es als Ausdruck einer Antikörper-Neutralisation bei allen drei Untergruppen zu einer Titersenkung, und zwar findet sich bei den Hunden mit schwerer Reaktion auch der höchste DRA-Titerabfall, nämlich um fast 5 Titerstufen (das entspricht einer Reduktion auf ca. 1/32 gegenüber dem Ausgangswert zu Beginn des Versuchs). Bei den Tieren mit leichter Reaktion beobachteten wir eine deutlich geringere Abnahme der DRA-Titer, nämlich um maximal 2 Titerstufen. Bei den Nicht-Reaktoren finden wir nach Dextran-Provokation fast keine Änderung. Die leichte Abnahme bis zum 30min.-Wert ist am ehesten durch den Verdünnungseffekt aufgrund der Dextran-Infusion bedingt. Eine graphische Aufschlüsselung der DRA-Neutralisation bei den Gruppe I_A - I_C zeigt Abbildung 10.

Tabelle 8: DRA-Titer bei den Tieren der Gruppe I vor und nach der Immunisierung sowie während des Versuchs (angegeben sind die Titerstufen).

		DRA-Titer vor Immunisierung	DRA-Titer am Ende der Immunisierg.(-DRA)	DRA-Titer während des Versuchs			
				I	II	III	IV
A (n=10)	$\bar{x}$	7,7	13,3 (+5,6)	10,4	7,7	5,8	6,9
	$s_{\bar{x}}$	0,8	0,7	0,9	0,9	1,5	1,4
B (n=6)	$\bar{x}$	8,6	11,9 (+3,3)	8,3	6,2	7,7	7
	$s_{\bar{x}}$	0,9	1,0	0,9	1,8	0,7	-
C (n=11)	$\bar{x}$	5,8	11,1 (+5,3)	8,9	7,5	8,5	6,7
	$s_{\bar{x}}$	1,4	0,9	1,2	0,8	0,5	0,9

Meßpunkte:

I Kontrollmessung vor Dextran-Injektion

II 2 min. nach Dextran-Injektion

III 10 min. nach Dextran-Injektion

IV 30 min. nach Dextran-Injektion

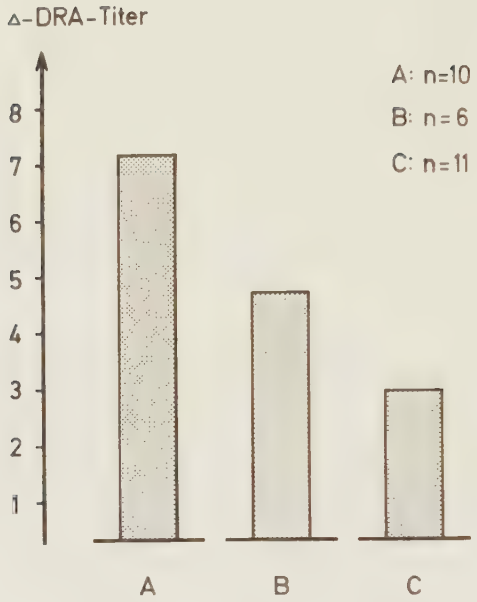


Abb.10: *Maximale DRA-Titer-Differenz während der Versuchsdauer in Bezug zum DRA-Titer am Ende der Immunisierung bei den Hunden der Gruppe I: Höchste Neutralisierung der DRA (ΔDRA > 7 Titerstufen) bei den Tieren der Gruppe IA,deutlich geringere Neutralisierung (ΔDRA < 5 Titerstufen) bei den schwach reagierenden Hunden (IB),die schwächste Neutralisierung bei den Tieren,die keine Reaktion zeigten (IC).*

Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) ist zu Versuchsbeginn bei allen Versuchstieren erhöht,wohl als Ausdruck einer Auseinandersetzung mit bakteriellen Infektionen (Tab.9). Bei Gruppe A und B stimmen die Werte mit 16,6/26,9 und 16,1/30,5 sehr gut überein,bei Gruppe C ist die BKS mit 11,2/19,3 deutlich niedriger.Möglicherweise unterstützen gleichzeitig bestehende Infektionen also die Reaktionsbereitschaft.

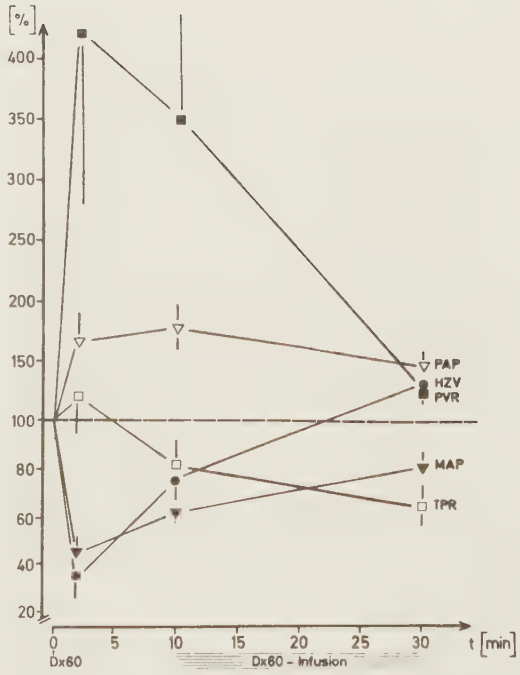
Tabelle 9: Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) bei Versuchstieren der Gruppe I nach der letzten Immunisierung (mm/h).

		1h / 2h
A (n=10)	$\bar{x}$	16,6 / 26,9
	$s_{\bar{x}}$	5,7 8,0
B (n=6)	$\bar{x}$	16,1 / 30,5
	$s_{\bar{x}}$	6,1 8,9
C (n=11)	$\bar{x}$	11,2 / 19,3
	$s_{\bar{x}}$	4,3 6,6

Zusammenfassung der Ergebnisse bei einer schweren Dextran-induzierten anaphylaktischen Reaktion bei immunisierten Hunden nach Provokation mit Dextran 60:

Abbildung 11 und 12 stellen zusammenfassend das klinische Bild einer schweren anaphylaktischen Reaktion auf Dextran-Provokation bei den untersuchten,immunisierten Hunden dar.Demnach kommt es bei einer schweren DIAR zu folgenden Veränderungen:

1) Eine massive Senkung des MAP und HZV.
2) Eine deutliche Zunahme des PAP,PCWP und PVR.
3) Ein starker Abfall der Thrombozyten- und Leukozytenzahlen.
4) Eine ausgeprägte Abnahme der Titer Dextran-reaktiver Antikörper (DRA).



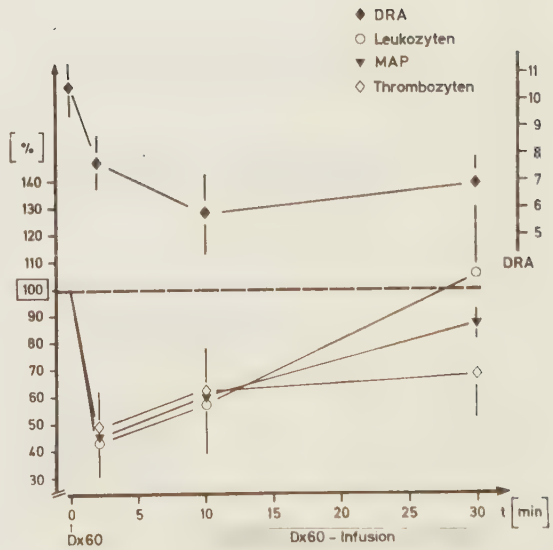


Abb.11 und 12: *Synoptische Darstellung der hämodynamischen und immunologischen Parameter einer schweren DIAR bei immunisierten Hunden nach Dx60-Challenge (Änderungen in % der Ausgangswerte vor Inj. von 1ml Dx60; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; Gruppe I A, n=10).*

Folgerungen:

1) Bei Hunden,die nach Immunisierung mit Edestin-Dextran den Patienten vor Auftreten einer DIAR vergleichbare Titer Dextran-reaktiver Antikörper aufwiesen,ließ sich durch intravenöse Injektion von 1ml Dextran 60 bei 59% der Versuchstiere eine DIAR auslösen.
2) Ähnlich der Situation bei Patienten mit DIAR zeigten auch die Hunde Reaktionen unterschiedlicher Schweregrade.
3) Aus der Tatsache,daß bei 41% der unter gleichen Bedingungen immunisierten Tiere keine DIAR nach Antigen-Provokation auftrat,läßt sich schließen,daß für den Schweregrad einer DIAR die Antikörpermenge nicht allein entscheidend sein kann.Für den Schweregrad einer Reaktion müssen demnach noch andere Faktoren eine Rolle spielen.

2.2. Gruppe II (Vorinjektion von 5ml Hapten-Dextran)

Die Versuchstiere der Gruppe II erhielten 5 min. vor Gabe von 1ml Dextran 60 (Macrodex^{R}) 5ml Hapten-Dextran i.v. injiziert.Nur ein Hund aus der Gesamtzahl von n=25 zeigte trotz Hapten-Vorinjektion eine schwere Reaktion nach Provokation mit 1ml Dextran 60,bei 3 Hunden kam es zu einer leichten DIAR,bei den anderen 21 Tieren fanden sich jedoch keine Veränderungen der gemessenen Parameter.

2.2.1. Hämodynamische Parameter

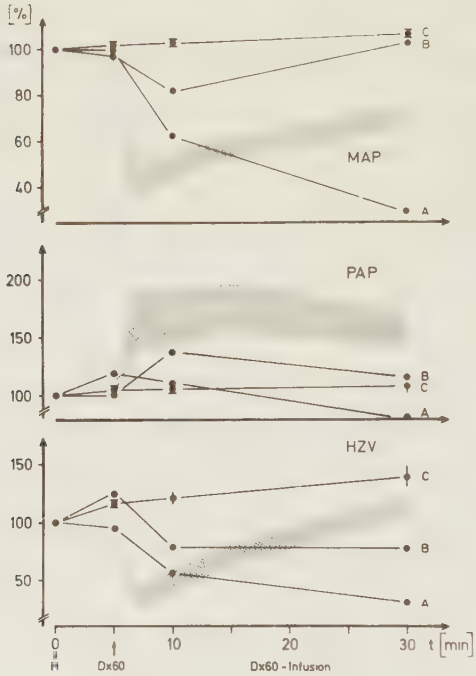


Abb.13: Verhalten des MAP,PAP und HZV bei Versuchstieren der Gruppe II nach Vorinjektion von 5ml Hapten-Dextran (H) und anschließender Provokation mit 1ml Dextran 60 (Dx 60).A(+++/++++):n=1,B(+/++):n=3, C(0):n=21.Im Vergleich dazu (s.Raster) der Ablauf der schweren DIAR bei Gruppe I_A.
(Änderungen in % des Ausgangswertes vor Hapten-Injektion).

Vergleicht man den einen Hund,der trotz Hapten-Vorinjektion schwer reagierte,mit Untergruppe A (also den Tieren mit schwerem anaphylaktischen Schock) der Kontrollgruppe (I A,

Tabelle 10: Veränderungen des mittleren arteriellen Blutdrukkes (MAP), des Pulmonalarteriendruckes (PAP) und des Herz-Zeit-Volumens (HZV) bei den Hunden der Gruppe II mit Hapten-Vorinjektion. (A:n=1, B:n=3, C:n=21)

			I	II	III	IV
MAP (mmHg)	A		120	120	75	35
	B		120	116	96	123
	C	$\bar{x}$	126	127	129	132
		$s_{\bar{x}}$	5,3	5,3	5,2	5,5
PAP (mmHg)	A		10	12	11	8
	B		17,6	17,6	25	19
	C	$\bar{x}$	12,2	12,7	12,9	12,1
		$s_{\bar{x}}$	3,5	0,9	0,9	0,9
HZV (ml/kgKG min)	A		315	302	179	101
	B		272	277	211	212
	C	$\bar{x}$	203	230	239	270
		$s_{\bar{x}}$	18,8	18,5	21,0	23,6

Meßpunkte:

I Kontrollmessung vor Dextran-Injektion

II 5 min. nach Hapten-Injektion

III 5 min. nach Provokation mit 1ml Dx 60

IV 1 min. nach Ende der Dx 60-Infusion (7ml/kgKG)

s.Abb.13,Raster),so verläuft der MAP-Abfall nach Provokation mit 1ml Dextran 60 etwas flacher,der Hund erholt sich aber ohne Therapie nicht mehr,der arterielle Blutdruck sinkt bis zum Versuchsende auf 35% des Ausgangswertes.Die 3 leichten Reaktionen lassen sich gut mit den entsprechenden aus Gruppe I B vergleichen: 5min. nach Injektion von 1ml Dextran 60 erfolgt ein Abfall des MAP auf 81,9%.Bis zu Versuchsende erreicht der arterielle Blutdruck wieder den Ausgangswert (103%). Die meisten Hunde (n=21) fallen in die Gruppe der Nicht-Reaktoren (C),ein Absinken des MAP bleibt aus;der diskrete Anstieg auf 106% ± 1,7 ist auf die Infusion von 7ml/kgKG Dextran 60 zurückzuführen.

Vergleicht man die PAP-Werte der Gruppe II mit den entsprechenden Werten bei Gruppe I,so unterscheidet sich das Verhalten des Pulmonalarteriendruckes für die schwere Einzelreaktion deutlich von den Mittelwerten der Gruppe I A: Der PAP zeigt einen sehr viel geringeren Anstieg (120%).Ein ähnliches Verhalten beobachten wir aber auch bei einzelnen Tieren der Gruppe I A.Die 3 leichten Reaktionen lassen sich wieder gut mit der entsprechenden Untergruppe der Kontrollgruppe (I B) vergleichen: 5min. nach Gabe von 1ml Dextran 60 findet sich hier ein Anstieg des PAP auf 138%,am Versuchsende liegt er mit 116% im Bereich der Ausgangswerte.Die Hunde der Gruppe II C zeigen im Verlauf der Dextran-Infusion einen leichten Anstieg auf 109% ± 5,7.

Das HZV fällt bei der schweren Reaktion (A) nach Challenge mit Dextran 60 auf 56,8% (5min.-Messung),bis zum Versuchs-

ende weiter auf 32% des Ausgangswertes (30min.).Das heißt, daß das Ausmaß dieser schweren Reaktion nach Hapten-Vorbehandlung demjenigen bei den Tieren der Kontrollgruppe entspricht,jedoch ist die Reaktionsgeschwindigkeit geringer. Bei den leichten Reaktionen (B) sehen wir nach Injektion von 5ml Hapten zunächst einen leichten Anstieg des HZV auf 126%,nach Applikation von 1ml Dextran 60 fällt es auf 79% des Ausgangswertes; in der Beobachtungsperiode erholen sich die Tiere nicht mehr ohne therapeutische Maßnahmen. Bei den Nicht-Reaktoren steigt das HZV während des Versuchs auf 140% ± 9,1 des Ausgangswertes an.
Tabelle 11 zeigt das Verhalten des pulmonalen kapillaren Verschlußdruckes (PCWP) bei den Tieren der Gruppe II.

Tabelle 11: Pulmonaler kapillarer Verschlußdruck (PCWP) bei Versuchstieren der Gruppe II (mmHg).

		I	II	III	IV
A (n=1)		3	4	4	6
B (n=3)		6,6	6,6	11,3	9
C (n=21)	$\bar{x}$	5,2	5,4	5,2	5,4
	$s_{\bar{x}}$	0,5	0,6	0,5	0,7

Bei dem Hund mit schwerer Reaktion steigt der PCWP schon nach der Hapten-Injektion auf 133%,nach Applikation von Dextran 60 erfolgt ein weiterer Anstieg auf 200%.Bei den Hunden mit leichter DIAR sehen wir 5min. nach Challenge mit 1ml Dextran 60 noch keine Veränderung,10min. später

erreicht der PCWP 201% des Ausgangswertes und fällt dann bis zum Ende der Dextran-Infusion auf 140% ab.
Die Herzfrequenz (HF,Tab.12) zeigt im Vergleich mit Gruppe I eine gute Übereinstimmung mit den entsprechenden Werten: Die Ausgangswerte sind bei den Tieren der Untergruppen A, B und C ebenfalls sehr hoch.Im weiteren Versuchsablauf findet sich außer bei den Hunden mit schwacher Reaktion (B) fast keine Veränderung der Herzfrequenz.

Tabelle 12: Herzfrequenz (min^{-1}) bei den Tieren der Gruppe II.

	I	II	III	IV
A (n=1)	145	130	145	130
B (n=3)	172	147	117	127
C (n=21) $\bar{x}$	150	152	153	154
$s_{\bar{x}}$	6,3	6,4	6,5	6,7

2.2.2. Hämatologische und immunologische Parameter

Wie Abb.14 veranschaulicht,erfolgt nach Injektion von 5ml Hapten-Dextran zunächst bei allen Tieren ein Anstieg der Thrombozytenzahlen. 5min. nach Applikation von 1ml Dextran 60 findet bei dem Hund mit schwerer DIAR,ähnlich wie bei den Tieren der Kontrollgruppe,ein massiver Thrombozytensturz auf 53,7% des Ausgangswertes statt,die Werte normalisieren sich im Verlauf der Beobachtungszeit nicht mehr.Die Thrombozyten der schwach reagierenden Hunde (B)fallen nach dem

initialen Anstieg (nach Hapten-Injektion) bis zu Versuchsende bis auf 110% des Kontrollwertes ab. Bei Gruppe C schwanken die Thrombozytenzahlen zwischen 91,6% ± 4,9 und 126% ± 18,5 des Ausgangswertes.

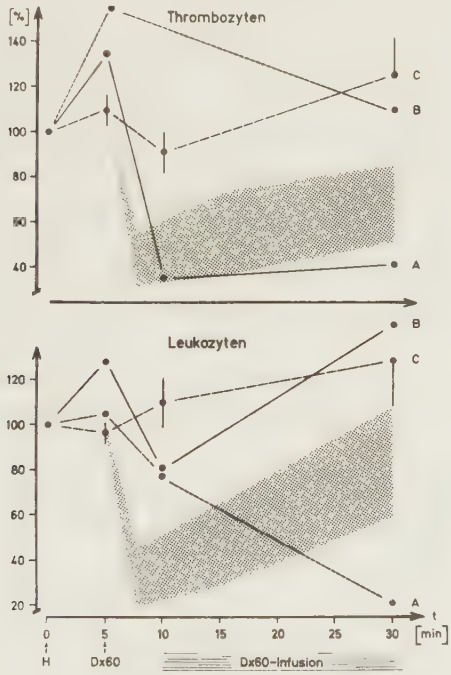


Abb.14: Verhalten der Thrombozytenzahlen (oberes Diagramm) und Leukozytenzahlen (unteres Diagramm) nach Voriniektion von 5ml Hapten-Dextran und anschließender i.v.-Injektion von 1ml Dextran 60, bzw. 7ml/kgKG Dextran 60-Infusion.
A: n=1 B: n=3 C: n=21
(Änderungen in % des Ausgangswertes).

Auch die Leukozytenzahl steigt nach Hapten-Injektion zunächst an, und zwar bei dem Tier, das auf Dextran-60-Provokation reagiert (A: 128%), nicht dagegen bei den Tieren der Untergruppe C (96,5% ± 4,9). Ähnlich wie bei den Thrombozytenzahlen fallen bei dem Hund mit schwerer Reaktion (A) die Leukozyten zunächst auf 79,4% des Ausgangswertes, am Versuchsende besteht mit 21,8% eine massive Leukopenie. Die Leukozytenzahl der 3 Tiere der Gruppe B fällt nach anfänglichem Anstieg auf 79,5% und nimmt dann bis zur 30 min.-Messung auf 152% zu. Bei den Nicht-Reaktoren bewegen sich die Leukozytenzahlen zwischen 96,5% ± 4,9 und 129% ± 20,2 des Ausgangswertes.

Tabelle 13: Hämoglobinkonzentration (Hb) und Hämatokrit (Hk) bei den Versuchstieren der Gruppe II.

				I	II	III	IV
[illegible]	[illegible]	A (n=1)		[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
		B (n=3)		12,2	11,5	10,4	10,7
		C (n=[illegible])	$\bar{x}$	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
			$s_{\bar{x}}$	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
Hk	[illegible]	A		[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
		B		[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
		C	$\bar{x}$	30,0	29,3	30,0	29,3
			$s_{\bar{x}}$	1,4	1,6	1,4	1,3

Tabelle 13 zeigt die Hb- und Hk-Werte. Wie bei Gruppe I bleiben beide Parameter vom Ausmaß der Reaktion unbeeinflußt. Bei

Tabelle 14: DRA-Titer bei den Tieren der Gruppe II vor und nach der Immunisierung sowie während des Versuchs (Angabe in Titerstufen).

		DRA-Titer vor Immunisierung	DRA-Titer während der Immunisierg. (Δ-DRA)	DRA-Titer während des Versuchs I	II	III	IV
A (n=1)		5	+7	12	11	10	9
B (n=3)		8	+6	10	11,6	10,6	9,3
C (n=21)	$\bar{x}$	5,8	+5,2	10,9	8,0	7,2	7,0
	$s_{\bar{x}}$	1,0	0,6	0,5	0,6	0,7	0,9

Meßpunkte:

I Kontrollmessung vor Dextran-Injektion

II 5 min. nach Hapten-Injektion

III 5 min. nach Provokation mit 1ml Dx 60

IV 1 min. nach Ende der Dx 60-Infusion

der schweren Einzelreaktion beobachten wir einen diskreten Anstieg des Hk von 30,5 auf 32% des Kontrollwertes,die Hb-Konzentration bleibt unverändert.Bei den drei schwach reagierenden Hunden (B) sinken im Verlauf der Infusion sowohl Hb wie Hk langsam ab,innerhalb der Untergruppe C verändern sich beide Parameter nicht.
Auch bei Gruppe II ist das Verhalten der Dextran-reaktiven Antikörper-Titer von besonderem Interesse.Die Titer vor Immunisierung und der Titer-Anstieg während der Immunisierung ist demjenigen der Gruppe I vergleichbar .Dagegen finden sich während des Experiments deutliche Unterschiede im Vergleich zu Gruppe I,auch innerhalb der Untergruppen A,B und C.Bei den Nicht-Reaktoren (n=21) bewirkt die Injektion von Hapten allein schon einen raschen deutlichen Abfall der DRA-Titer von fast 3 Titerstufen,wohingegen die Tiere mit massiver und rasch eintretender klinischer Reaktion einen verzögerten und geringeren Abfall der DRA-Titer erkennen lassen.Der Hund mit schwerer DIAR zeigt einen stetigen,im Vergleich zu Gruppe I aber schwächeren Titerabfall um insgesamt 3 Titerstufen.Ähnlich verhalten sich die DRA bei den schwach reagierenden Hunden.

Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) war bei dem mit einer schweren DIAR reagierenden Hund stark erhöht (33/52) (Tab.15),auch hier gilt wieder,daß die bestehende Infektion die Reaktionsbereitschaft durch Bildung kreuzreagierender Antikörper wahrscheinlich erhöht hat.Aber auch bei den

Tieren der Gruppe B (15/30,7 und Gruppe C (17,7/32) finden wir gegenüber der Norm erhöhte BKS-Werte.

Tabelle 15: Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) bei Versuchstieren der Gruppe II nach der letzten Immunisierung (mm/h).

		1h / 2h
A (n=1)		33 / 52
B (n=3)		15 / 30
C (n=21)	$\bar{x}$	17,7/ 32
	$s_{\bar{x}}$	3,4 5,7

Folgerung:

Faßt man die Ergebnisse bei Gruppe II (Vorinjektion von 5ml Hapten-Dextran vor Provokation mit Dextran 60) zusammen,ergibt sich folgende prozentuale Verteilung der DIAR hinsichtlich der Inzidenz der einzelnen Schweregrade:

Tabelle 16: Prozentuale Verteilung der DIAR am Hund nach Schweregraden.Vergleich Kontrollgruppe (Gr.I) mit der Gruppe II (Hapten-Vorinjektion).

	n	Schweregrad					
		0	+	++	+++	++++	Reaktionen (gesamt)
Dx 60	27	41%	18%	4%	11%	26%	59%
Hapten-Vorinjektion	25	84%	12%	0%	0%	4%	16%

Nach Vorinjektion von 5ml Hapten-Dextran konnte durch Provokation mit 1ml Dextran 60 nur bei 16% der Versuchstiere eine DIAR ausgelöst werden.Das bedeutet,daß die Hapten-

Hemmung die Gesamtzahl anaphylaktoider Reaktionen reduziert.Der Unterschied zur Kontrollgruppe ist hochsignifikant.Lediglich bei einem Tier blieb die Prophylaxe unwirksam,bei 3 Tieren wurde eine schwache Reaktion beobachtet. Es findet also nach Hapten-Vorinjektion neben der Reduktion der DIAR-Gesamthäufigkeit eine signifikante Verschiebung in der Schweregradskala mit Vorherrschen von leichten Reaktionen statt.

2.3. Gruppe III - gleichzeitige Applikation von Hapten-Dextran und Dextran 60

2.3.1. Hämodynamische Parameter

Die Hunde der Gruppe III erhielten Hapten-Dextran gleichzeitig mit der Infusion von Dextran 60.Von 18 Tieren zeigten zwei eine starke (A) und eines eine schwache (B) Reaktion.15 Hunde reagierten überhaupt nicht.

Der mittlere arterielle Druck (MAP,s.Abb.15,oberes Diagramm,sowie Tab.17) fällt bei den beiden Tieren mit schwerer DIAR innerhalb von 5 min. nach Infusionsbeginn massiv ab (29% des Ausgangswertes).Im weiteren Verlauf der Infusion,die dann aus therapeutischen Gründen gegeben wurde, steigt der MAP auf 83,5%,bzw.88%,-das entspricht dem Verhalten in Gruppe I,- und erreicht nach 60min. wieder den Ausgangswert.Bei dem Tier mit schwacher Reaktion fällt der MAP nur ganz diskret ab (91% des Kontrollwertes),bei Versuchsende erreicht er 109%;dieser leichte Anstieg läßt sich durch die Infusionsbelastung erklären.Bei den Nicht-Reaktoren bleibt der Druck konstant (100%,bzw.101% $\pm$ 2,1).

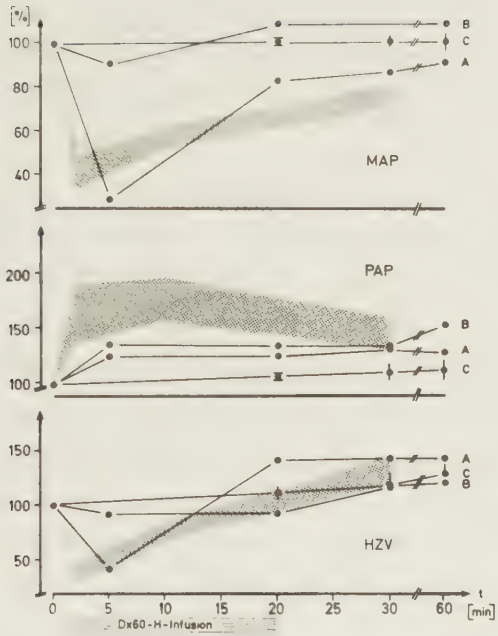


Abb.15: *Verhalten des MAP (oberes Diagramm),des PAP (mittleres Diagramm) und des HZV(unteres Diagramm) bei Versuchstieren der Gruppe III (Änderungen in % des Ausgangswertes).*

Bei den beiden Tieren aus Gruppe II A wie auch bei der leichten Einzelreaktion läßt der Pulmonalarteriendruck (PAP,s.Abb.15,mittleres Diagramm,sowie Tab.17) zwar kein deutlich unterschiedliches Verhalten erkennen,die Werte sind aber durchaus vergleichbar mit den Ergebnissen bei Gruppe I A und B.Bei den beiden Hunden mit schwerer DIAR steigt der PAP 5min. nach Infusionsbeginn auf 127% des

Tabelle 17: Veränderungen des mittleren arteriellen Druckes (MAP), des Pulmonalarteriendruckes (PAP) und des Herz-Zeit-Volumens (HZV) bei Versuchstieren der Gruppe III (eingebaute Hapten-Hemmung). (A: n=2, B: n=1, C: n=15).

			I	II	III	IV
MAP (mmHg)	A		130	37,5	105	115
	B		110	100	120	120
	C	$\bar{x}$	131	132	134	121
		$s_{\bar{x}}$	4,7	4,8	5,2	5,8
PAP (mmHg)	A		13	17	17	17
	B		11	15	15	17
	C	$\bar{x}$	12,9	14,1	14,4	14,3
		$s_{\bar{x}}$	0,7	0,9	1,0	1,3
HZV (ml/kg min)	A		150	63	213	227
	B		134	123	158	161
	C	$\bar{x}$	174	189	213	242
		$s_{\bar{x}}$	12,1	11,5	19,4	29,9

Meßpunkte:

I Kontrollmessung vor Hapten-Dx60-Infusion

II 2min. nach Ende der Hapten-Dx60-Infusion

III 10min. nach Ende der Hapten-Dx60-Infusion

IV 40min. nach Ende der Hapten-Dx60-Infusion

Ausgangswertes,bei dem Tier mit leichter Reaktion auf 136%,in beiden Untergruppen halten sich diese Werte bis zur 30min.-Messung.Bei Versuchsende sind die Pulmonalarteriendrucke sowohl in Gruppe III A wie auch III B über den Ausgangswert erhöht.

Das Verhalten des Herz-Zeit-Volumens (HZV,s.Abb.15, unteres Diagramm,sowie Tab.17) zeigt eine gute Korrelation mit den Ergebnissen bei Gruppe I.In Untergruppe III A ist das HZV 5min. nach Beginn der Hapten-Dextran 60-Infusion auf 41% des Ausgangswertes gesunken,beide Tiere haben sich aber 30min. später wieder völlig erholt,das HZV erreicht 141%.Bei dem Hund mit schwacher Dextran-Reaktion fällt das Herz-Zeit-Volumen nur leicht ab (92% des Kontrollwertes),auch hier normalisiert sich der Wert bis zum Versuchsende (118%).Bei den Hunden der Gruppe III C beobachten wir im Verlauf der Infusion einen leichten Anstieg auf 128%.

Tabelle 18: Pulmonaler kapillärer Verschlußdruck (PCWP, mmHg) bei Versuchstieren der Gruppe III.

		I	II	III	IV
A (n=2)		8,5	6	8	7
B (n=1)		4	7,5	7,5	7
C (n=15)	$\bar{x}$	5,3	6,2	5,6	5,5
	$s_{\bar{x}}$	0,3	0 ,5	0,3	0,6

Der pulmonale kapilläre Verschlußdruck (PCWP,s.Tab.18) steigt bei den beiden Hunden der Gruppe III A nicht wie

erwartet an,sondern fällt zunächst auf 77% ab und erreicht dann 93%,bzw.85%.Ein ähnlicher Verlauf zeigt sich aber auch bei 2 Tieren der Kontrollgruppe.Bei dem Hund mit schwacher Reaktion steigt der PCWP nach relativ niedrigem Ausgangswert auf 188% an,dieser Wert hält sich über die gesamte Versuchsdauer.Bei den Hunden der Gruppe C stabilisiert sich der PCWP bei 109% nach anfänglichem Anstieg auf 117%.

Die Herzfrequenz-Werte der Gruppe III stimmen mit den entsprechenden Werten der Kontrollgruppe ebenfalls gut überein (s.Tab.19).Alle Ausgangswerte sind gegenüber der Norm erhöht.

Tabelle 19: Die Herzfrequenz (min^{-1}) bei Versuchstieren der Gruppe III.

		I	II	III	IV
A (n=2)		168	132	125	133
B (n=1)		200	180	180	190
C (n=15)	$\bar{x}$	154	155	153	149
	$s_{\bar{x}}$	4,9	4,8	4,5	4,8

In Gruppe III A bewegt sich die Herzfrequenz nach einem Anfangswert von 168 min^{-1} konstant um 130 min^{-1}.Bei dem Hund mit schwacher Reaktion bleibt der Wert während des gesamten Versuchs stark erhöht (180-200 min^{-1}).Die Tiere der Gruppe III C weisen stabile Werte um 150 min^{-1} auf.

2.3.2. Hämatologische und immunologische Parameter

Auch bei den beiden stark reagierenden Hunden (A) der Gruppe mit eingebauter Hapten-Hemmung ist innerhalb von 5 min. nach Anlegen der Infusion ein massiver Thrombozytensturz auf 55,2% zu beobachten (s.Abb.16,oberes Diagramm);sie steigen bis zum Versuchsende nur bis auf 68,5% des Ausgangswertes an.Bei der leichten Einzelreaktion (B) sinken die Thrombozytenzahlen zunächst nur leicht (92%)

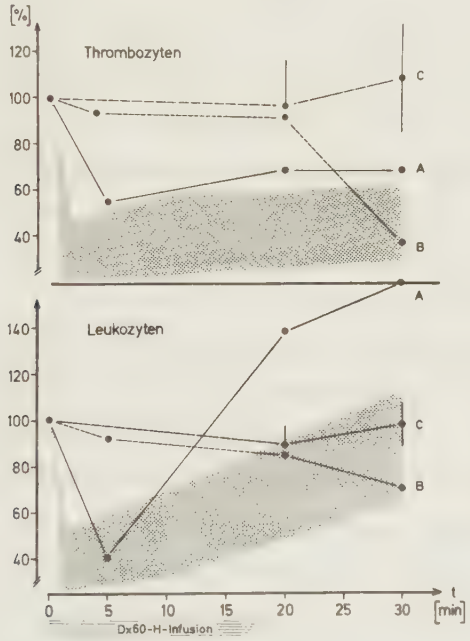


Abb.16: Verhalten der Thrombozytenzahlen (oberes Diagramm) und Leukozytenzahlen (unteres Diagramm) bei eingebauter Hapten-Hemmung (A:n=2;B:n=1;C:n=15).

erreichen dann aber 30 min. nach Beginn der Infusion den Tiefstwert von 37,5%,obwohl sich keine entsprechenden Veränderungen der Kreislaufparameter finden.Bei den Nicht-Reaktoren bewegen sich die Thrombozytenzahlen zwischen 97,1% ± 20,9 und 109% ± 23,9.

Die Leukozyten fallen bei den Tieren der Gruppe III A 5 min. nach Infusionsbeginn massiv ab (41,4% des Ausgangswertes),sie erholen sich aber völlig und erreichen sogar Werte,die weit über dem Ausgangswert liegen (161%).Dies entspricht dem Verhalten der Leukozytenzahlen bei den Tieren der Gruppe I A.Bei den Hunden mit leichter DIAR beobachten wir einen allmählichen Leukozytenabfall,die Leukozytenzahlen erreichen bis zum Versuchsende 71,3%. Bei den Nicht-Reaktoren schwanken die Leukozytenzahlen zwischen 89,6% ± 8,3 und 103% ± 10,5.

Tabelle 20 zeigt das Verhalten der Hb- und Hk-Werte. Im Verlauf der Infusion sinken beide Parameter in allen 3 Untergruppen durch die infusions-bedingte Blutverdünnung ab.Bei den beiden Tieren mit schwerer Reaktion fällt die Hämoglobinkonzentration im Versuchsverlauf von 10,6 auf 8,4 g% und der Hämatokrit von 31,5 auf 24% ab.In Gruppe III B finden wir sehr niedrige Ausgangswerte mit einem Hb von 8,3 g% und einem Hk von 25%.Während der Infusion sinkt hier das Hb auf 6,8 g% und der Hk auf 20%.Bei den Hunden der Gruppe III C fällt die Hb-Konzentration von 10,9 g% auf 9,9 ± 0,6 g%,der Hämatokrit von 32,4 ± 1,6 % auf 28,8 ± 1,3 %.

Tabelle 20: Hämoglobinkonzentration (Hb) und Hämatokrit (Hk) bei Versuchstieren der Gruppe III.

			I	II	III	IV
Hb (g%)	A (n=2)		10,6	10,3	8,3	8,4
	B (n=1)		8,3	8,6	8,0	6,8
	C (n=15)	$\bar{x}$	10,9	10,0	9,9	---
		$s_{\bar{x}}$	0,6	0,6	0,6	---
Hk (%)	A		31,5	29,5	24,5	24,0
	B		25,0	25,0	23,0	21,0
	C	$\bar{x}$	32,4	28,8	28,8	---
		$s_{\bar{x}}$	1,6	1,4	1,3	---

Bei den DRA-Titern (s.Tab.21) beobachten wir folgendes Verhalten: Bei beiden Hunden aus Gruppe III A steigt der Titer Dextran-reagierender Antikörper während der Immunisierung um 6,5 Titerstufen stark an.Während der Reaktion, die nach wenigen Tropfen der Hapten - Dextran 60 - Infusion akut einsetzt,findet eine massive Neutralisation der DRA statt,die Titer fallen von 10,5 auf 4,5 ab,bei Versuchsende haben sie sich bis zu Titerstufe 7 erholt.Der Hund mit schwacher DIAR zeigt ebenfalls einen deutlichen Immunisierungseffekt (DRA-Anstieg um 5 Titerstufen),auch hier findet während des Versuchs eine Neutralisation der DRA statt (ebenfalls um 5 Titerstufen).Bei den nichtreagierenden Tieren der Gruppe III (C) weisen die Titer relativ hohe Ausgangswerte auf (8,6) und mit 2,8 $\pm$1,2 nur einen mäßigen Titeranstieg.

Tabelle 21: DRA-Titer bei den Hunden der Gruppe III vor und nach der Immunisierung sowie während des Versuchs.

		DRA-Titer vor Immunisierung	DRA-Titer während der Immunisierg.	DRA-Titer währemd des Versuchs			
				I	II	III	IV
A (n=2)		4,5	+ 6,5	10,5	4,5	4,5	7
B (n=1)		9	+ 5	14	9	9	10
C (n=15)	$\bar{x}$	8,6	+ 2,8	9,8	8,3	7,3	--
	$s_{\bar{x}}$	1,0	1,2	0,4	0,7	1,9	--

Meßpunkte:

I Kontrollmessung vor Hapten-Dx60-Infusion

II 2min. nach Ende der Hapten-Dx60-Infusion

III 10min. nach Ende der Hapten-Dx60-Infusion

IV 40min. nach Ende der Hapten-Dx60-Infusion

Während der Infusion sinkt hier der Titer von 9,8 ± 0,4 auf 7,3 ± 0,9 Titerstufen ab.

Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS,s.Tab.22) ist bei den Tieren aller 3 Untergruppen (III A,B und C) erhöht,jedoch bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen ihnen.

Tabelle 22: Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) bei Versuchstieren der Gruppe III nach der letzten Immunisierung.

		1h / 2h
A (n=2)		16 / 38
B (n=1)		10 / 39
C (n=15)	$\bar{x}$	18 / 30
	$s_{\bar{x}}$	3,9 6,4

Folgerung:

Faßt man die Ergebnisse bei Gruppe III (gleichzeitige Applikation von Hapten-Dextran und Dextran 60,"eingebaute" Hapten-Hemmung) zusammen,ergibt sich folgende prozentuale Verteilung der DIAR hinsichtlich der Inzidenz der einzelnen Schweregrade (Tab.23):

Tabelle 23: Prozentuale Verteilung der DIAR am immunisierten Hund nach Schweregraden.Vergleich Kontrollgruppe (Gr.I) mit Gruppe III (eingebaute Hapten-Hemmung).

	n	Schweregrad 0	+	++	+++	++++	DIAR (gesamt)
Dextran 60	27	41%	18%	4%	11%	26%	59%
eingebaute Hapten-Hemmung	18	83%	6%	0%	11%	0%	17%

Bei gleichzeitiger Applikation von Hapten-Dextran und Dextran 60,der sogenannten "eingebauten" Hapten-Hemmung, konnte nur bei 17% der Versuchstiere eine DIAR ausgelöst werden,auch in dieser Gruppe wird also die Gesamthäufigkeit reduziert.Der Unterschied zur Kontrollgruppe ist ebenfalls hochsignifikant.Zwischen den beiden Haptengruppen (Vorinjektion von Hapten,bzw. eingebaute Hapten-Hemmung) besteht kein signifikanter Unterschied.Schwere Reaktionen kommen auch bei der eingebauten Hapten-Hemmung nur vereinzelt vor,das bedeutet,daß auch hier eine Abschwächung des Reaktionsschweregrades,eine Verschiebung in der Schweregradskala zu leichten Reaktionen hin stattfindet.

2.4. Untersuchungen am wachen Hund (Pilot-Studie)

Wie im Kapitel "Methodik" dargestellt,wurden bei einer geringen Anzahl (n=8) von Hunden Untersuchungen im Wach-Zustand durchgeführt,um die Wirkung einer Dextran 60 -Provokation ohne Narkoseeinfluß zu beobachten.

Die folgenden kurzen Fall-Darstellungen zeigen das klinische Bild,das die Hunde nach Challenge mit Dextran 60 boten und das bei Auslösung einer DIAR durchaus den Beobachtungen bei Patienten mit anaphylaktoider Reaktion entspricht.

Dxh 83: Ausgangssituation:Kein auffälliger klinischer
(++) Befund.

2 min. nach Applikation von 1ml Dextran 60 ist im EKG eine deutliche Tachycardie (120 min^{-1}) zu beobachten,nach weiteren 3 min. wird der Hund sichtbar dyspnoisch,fängt an zu zittern,die Tachy-

cardie ist noch stärker ausgeprägt.Die nachfolgende Injektion von 10ml Dextran 60 führt jedoch zu keiner zusätzlichen Verschlechterung.Am Versuchsende sind keine auffälligen Symptome mehr zu beobachten.

Dxh 84: (0) Ausgangssituation:Bis auf eine leichte Arrhythmie unauffällig.
Die intravenöse Injektion von 1ml/bzw.10ml Dx 60 bewirkt keine Änderung des klinischen Aspekts. Der Hund bleibt ruhig,die Pulsqualität ist unverändert,die Atmung regelmäßig.

Dxh 87: (+) Außer einer leichten Arrhythmie unauffälliger Befund zu Versuchsbeginn.Herzfrequenz 80 min^{-1}.
Nach Provokation mit 1ml Dextran 60 werden keine klinischen Zeichen einer Reaktion beobachtet. Gleichbleibende Pulsqualität,regelrechte Atmung. Auch nach Gabe von 10ml Dextran 60 bleibt der Hund klinisch unauffällig,nur im EKG ist eine leichte Tachycardie zu sehen,die Herzfrequenz steigt auf 115 min^{-1}an.Dies ist im Sinne einer leichten Reaktion (+) zu werten.

Dxh 89: (++) Kinderfaustgroßer Tumor der rechten Milchleiste (histologisch:Mamma-Carcinom),sonst klinisch unauffälliger Ausgangsbefund.
Nach Injektion von 1ml Dextran 60 fängt der Hund an leicht zu zittern,wird aber innerhalb von 5min. wieder ruhig.Die Applikation von weiteren 10ml Dextran 60 führt zu einem starken Frequenzanstieg

(150 min^{-1}).

Dxh 81: Kein pathologischer Befund zu Versuchsbeginn.

(+++) Der Challenge mit 1ml Dextran 60 führt bei dem Tier zu ausgeprägten EKG-Veränderungen,es ist ein spitzgipfliges,stark erhöhtes T (sog. Erstickungs-T) zu beobachten.Die Frequenz sinkt zunächst auf 50 min^{-1} und steigt dann innerhalb von 3min. auf 110 min^{-1}.Der Hund zittert stark, wird tachypnoisch.Die Herzfrequenz beträgt jetzt 130 min^{-1},erholt sich aber während der nächsten 5 min.(80 min^{-1}).Auf die anschließende Injektion von 10ml Dextran 60 ist zunächst eine vorübergehende Bradycardie,danach eine erneute Tachycardie zu sehen.Normalisierung innerhalb von 4 min.

Dxh 64: Unauffälliger Ausgangsbefund.Herzfrequenz 90 min^{-1}.

(++++) Nach Applikation von 1ml Dextran 60 Abnahme der Herzfrequenz auf 65 min^{-1},der Hund kollabiert, uriniert.Herzfrequenz 50 min^{-1}.

Therapeutische Infusion von Dextran 60 im Strahl. Nach 5 min. ist der Hund immer noch im schweren Schockzustand,es kommt zur Defäkation.Atemstillstand,weite Pupillen.Nach Intubation und Sauerstoffzufuhr langsame Besserung.18 min. nach Versuchsbeginn reagieren die Pupillen wieder,das Tier zeigt aber noch deutliches Kältezittern und

typische Pfötchenstellung.Die Herzfrequenz beträgt 170 min^{-1}.Nach weiteren 6 min. sitzt der Hund wieder spontan,die Herzfrequenz ist auf 95 min^{-1} gesunken.

Dxh 75: Kein pathologischer Ausgangsbefund.

(+) In Lokalanästhesie werden ein venöser und ein arterieller Katheter (v./bzw.a.femoralis) gelegt. MAP 120 mmHg.Die Injektion von 1ml Dextran 60 führt zu keiner klinischen Reaktion,EKG und MAP bleiben unverändert.Im Verlauf der Infusion von 7ml/kgKG Dextran 60 ist sowohl eine Arrhythmie wie auch ein Frequenzanstieg (104 min^{-1}) zu beobachten.Beide Veränderungen normalisieren sich wieder bis zum Versuchsende.

Dxh 91: Klinisch unauffällig zu Versuchsbeginn.

(O) Einführen eines venösen und arteriellen Katheters in Lokalanästhesie.MAP 120 mmHg,HF 140 min^{-1}. Die Injektion von 1ml/bzw. 10ml Dextran 60 führt zu keinerlei Veränderungen,der arterielle Blutdruck und auch die Herzfrequenz bleiben konstant, eine klinische Reaktion ist nicht zu sehen.

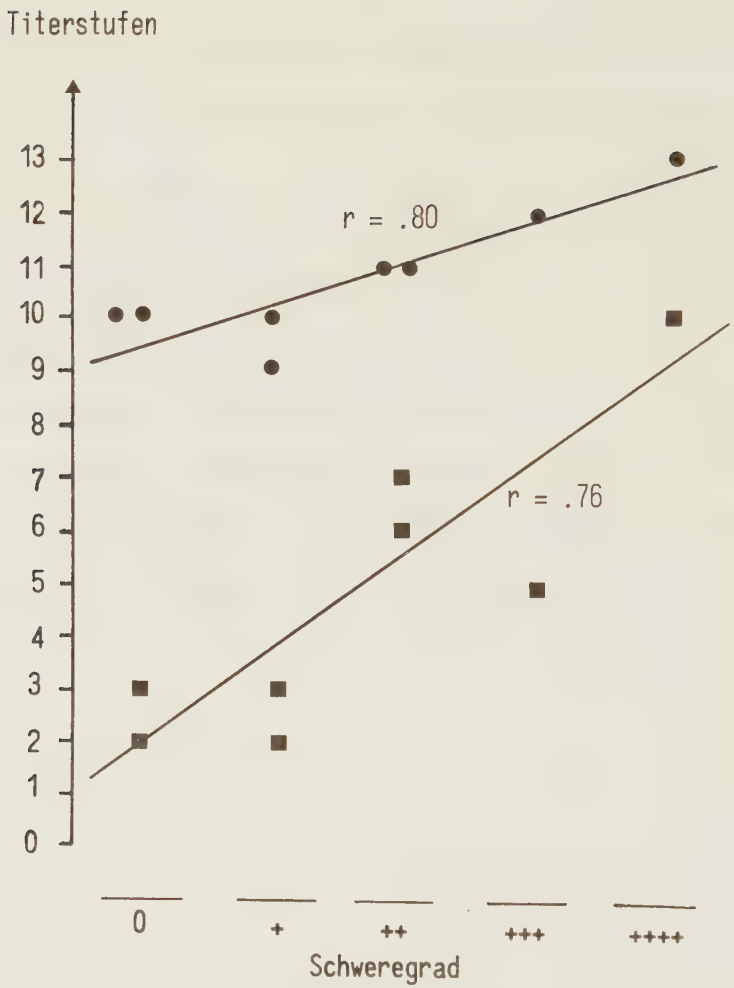
Tabelle 24 enthält die aus den vor und während des Versuchs entnommenen Blutproben bestimmten Laborwerte.Die Ergebnisse entsprechen denjenigen der Kontrollgruppe (I).Der Hämatokrit und die Hämoglobinkonzentration bleiben im wesentlichen

Tabelle 24: Veränderungen der Blutparameter nach Provokation mit aml Dx 60 am immunisierten wachen Hund (n=8).

Hund Nr. (Schweregrad)		Hb(g%)	Hkt(%)	Thrombozytenzahl (mm^{-3})	Leukozytenzahl (mm^{-3})	DRA-Titer
Dxh 84	I	10,50	30,0	170 000	18 350	10
(0)	II	10,13	28,5	90 000	17 900	6
	III	9,75	30,0	75 000	15 400	6
Dxh 91	I	13,31	38,5	85 000	4 800	10
(0)	II	12,48	35,5	100 000	4 300	8
	III	11,21	32,5	85 000	4 500	7
Dxh 87	I	10,0	30,5	155 000	13 000	10
(+)	II	9,75	29,0	150 000	14 950	8
	III	9,75	29,0	190 000	13 850	7
Dxh 75	I	13,99	42,5	90 000	9 450	9
(+)	II	13,61	40,0	110 000	6 900	9
	III	11,84	35,5	70 000	5 500	7
Dxh 83	I	10,28	30,0	35 000	14 500	11
(++)	II	8,70	26,0	10 000	10 900	6
	III	10,13	30,5	25 000	13 050	4
Dxh 89	I	11,63	36,0	160 000	12 350	11
(++)	II	11,66	35,0	45 000	11 150	7
	III	10,88	34,0	55 000	8 500	5
Dxh 81	I	13,35	38,0	340 000	7 050	12
(+++)	II	13,43	40,5	35 000	2 850	7
	III	12,56	38,0	80 000	5 000	8
Dxh 64	I	12,98	38,5	75 000	15 800	13
(++++)	II	11,51	33,5	40 000	5 550	3
	III	-	-	-	-	-

unbeeinflußt,die Veränderungen der Thrombozyten- und Leukozytenzahlen korrelieren auch hier mit dem Schweregrad der Reaktion.

Abbildung 17 veranschaulicht sowohl die Beziehung zwischen dem DRA-Titer am immunisierten Tier vor DIAR zum Ausmaß der Reaktion,als auch das Verhältnis der DRA-Neutralisation (Δ-DRA) zum DIAR-Schweregrad.Hier zeichnet sich ebenfalls eine direkte Korrelation beider Parameter mit dem Reaktionsschweregrad ab: Mit steigendem DRA-Titer vor Versuchsbeginn war auch ein zunehmender Schweregrad der Reaktion nach Provokation mit 1ml Dextran 60 zu beobachten.Die Neutralisation der DRA,gemessen an der Abnahme des Titers im Verlauf der DIAR,war bei schwereren Reaktion eindeutig stärker ausgeprägt.



● Ausgangstiter der DRA (vor Dx-Provokation)

■ △-DRA (während des Versuchsablaufs)

Abb.17: Verhältnis der DRA-Titer vor DIAR (●),bzw.Verhältnis der DRA-Neutralisation (△-DRA)während des Versuchs (■) zum Schweregrad der Reaktion nach Dextran-Challenge am immunisierten wachen Hund (n=8).

3. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE:

Immunisierung:

a) Bereits vor der ersten Dextran-Applikation, d.h. vor Immunisierungsbeginn, lassen sich in der passiven Hämagglutination bei den meisten Hunden präformierte DRA nachweisen. Dies entspricht den Untersuchungsergebnissen bei Patienten.

b) Edestin-Dextran ist am Hund immunogen, es löst mit der Bildung Dextran-reaktiver Antikörper eine deutliche Immunantwort aus.

c) Die Stärke der Immunantwort ist abhängig von der immunologischen Ausgangssituation der Hunde. Sie verhält sich umgekehrt proportional zur Höhe des Ausgangstiters präformierter DRA.

d) Mit positivem Ergebnis bei Verdünnungsstufe 9-16 in der passiven Hämagglutination entsprachen die DRA-Titer unserer Versuchstiere am Ende der Immunisierung denjenigen von Patienten vor Auftreten einer Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktion (DIAR).

Dextran-Challenge am immunisierten Hund:

a) Durch intravenöse Applikation von 1ml Dextran 60 ließ sich bei der Mehrzahl der Versuchstiere (59%) eine DIAR auslösen.

b) Das klinische Bild einer schweren anaphylaktoiden Reaktion auf Dextran-Provokation entspricht einer schweren DIAR am Patienten, und zwar gehört dazu:

- eine massive Senkung des MAP und HZV,
- eine deutliche Zunahme des PAP,PCWP und PVR,
- ein starker Abfall der Thrombozyten- und Leukozytenzahlen,
- eine ausgeprägte Abnahme der Titer Dextran-reaktiver Antikörper (DRA) aufgrund einer Neutralisation.

c) Ähnlich der Situation bei Patienten mit DIAR,zeigten auch die Hunde Reaktionen unterschiedlicher Schweregrade.

d) Aus der Tatsache,daß bei 41% der unter gleichen Bedingungen immunisierten Tiere keine DIAR nach Antigen-Provokation auftrat,läßt sich schließen,daß für das Ausmaß einer DIAR nicht allein die Antikörpermenge entscheidend ist,es müssen hierfür auch noch andere Faktoren eine Rolle spielen.

Erfolg der Hapten-Hemmung:

Tabelle 25: Prozentuale Verteilung der DIAR-Häufigkeit am immuniserten Hund nach Schweregraden.Vergleich der 3 Versuchsgruppen.

	n	Schweregrade					Reaktionen (gesamt)
		0	+	++	+++	++++	
Dextran 60	27	41%	18%	4%	11%	26%	59%
Hapten-Vorinjektion	25	84%	12%	0%	0%	4%	16%
Hapten eingebaut	18	83%	6%	0%	11%	0%	17%
Hapten (gesamt)	43	84%	9%	0%	5%	2%	16%

In der Übersichtstabelle (Tab.25) sind die Ergebnisse der Kontrollgruppe (Challenge mit Dextran 60) und der Gruppe II (Hapten-Vorinjektion) und III (eingebaute Hapten-Hemmung) zusammengefaßt:

Mit beiden Applikationsformen läßt sich

a) sowohl eine Reduktion der DIAR-Häufigkeit, als auch

b) eine Linksverschiebung in der Schweregradskala

erreichen.

Beide Formen der Hapten-Hemmung erscheinen daher zur DIAR-Prophylaxe geeignet.

D. DISKUSSION

1. Pathomechanismen der Dextran-induzierten anaphylaktoiden/ anaphylaktischen Reaktion.

Um die eingangs gestellte Frage nach einer möglichen Prophylaxe der Dextran-induzierten anaphylaktischen Reaktion (DIAR) beim Menschen beantworten zu können,erscheint es notwendig,zunächst die denkbaren Pathomechanismen darzustellen. Die klinisch beobachtete Unverträglichkeitsreaktion nach Applikation von Dextran ist das letzte Glied einer pathophysiologischen Kausalkette,in die man nur eingreifen kann, wenn man die auslösenden Faktoren kennt.

Abbildung 18 zeigt die Faktoren,die bei der Auslösung der DIAR eine Rolle spielen könnten;die Bedeutung soll in den nächsten Kapiteln näher ausgeführt werden.Die Einteilung in Patienten- und Präparat-spezifische Kausalfaktoren ist willkürlich und stark vereinfacht,da die verschiedenen Mechanismen ineinandergreifen und sich zum Teil gegenseitig bedingen.

1.1. Präparatspezifische DIAR-auslösende Faktoren.

1.1.1. Molekularstruktur,-größe,-gewicht.

Schon 1945 wurde hydrolysiertes und gereinigtes Dextran als Plasmaersatz in die Medizin eingeführt (18,56,78,188).
Die heute gebräuchlichen klinischen Dextrane (M_w 40 000 und 60-,70-,bzw. 75 000) werden aus annähernd linearem Nativ-Dextran hergestellt,das vom Bacterium Leuconostoc Mesente-

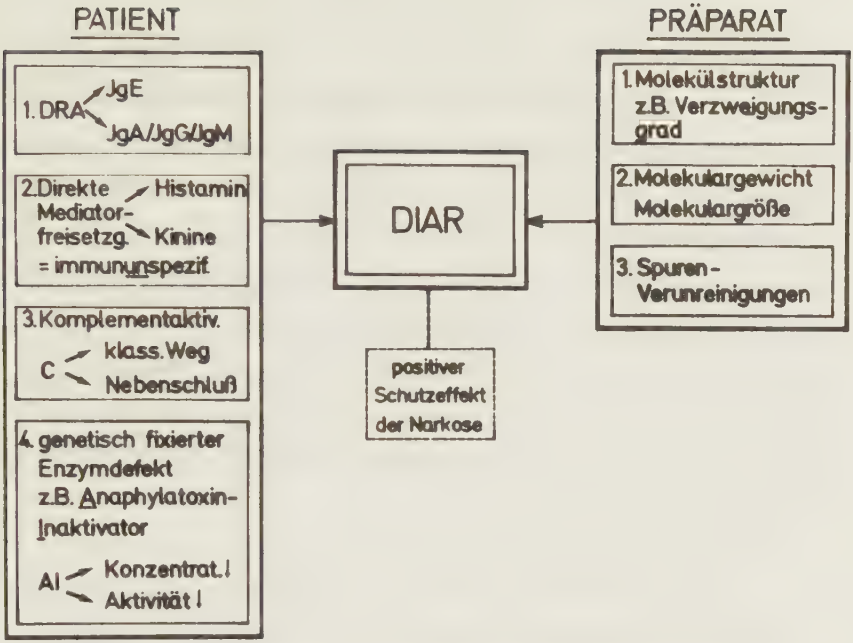


Abbildung 18: *Faktoren, die möglicherweise bei Auslösung der DIAR eine Rolle spielen.*
Linke Bildhälfte: Patientenspezifische Faktoren.
Rechte Bildhälfte: Präparatspezifische Faktoren.

roides NRRL B512 synthetisiert wird (79,109). Der Verzweigungsgrad ist sehr gering, die Glukose-Einheiten sind zu 96% α-1,6-glykosidisch verknüpft, nur in ca. 4% liegen α-1,4- oder α-1,3-glykosidische Bindungen vor (12,75,85,125).

Bereits in den ersten Jahren der klinischen Anwendung wurden Unverträglichkeitsreaktionen beobachtet (188). Um die Frage der möglichen Immunogenität von Dextran für den Menschen zu klären, wurden daher ausgedehnte tierexperimentelle und klinische Untersuchungen durchgeführt, deren Ergebnisse schließlich zu den heute verwendeten klinischen Dextranen führten, die selbst keine Anti-Dextran-Antikörper induzieren können (57,85,88).

Mit Nativ-Dextran, dessen Molekulargewicht über 1 000 000 Dalton liegt, ist es möglich, schon in niedriger Dosierung (1mg) beim Menschen eine Immunantwort auszulösen, es kommt nach mehrmaliger subcutaner Injektion von 0,5mg Dextran zur Quaddel-Bildung und erythematöser Reaktion (86,109,110). Vergleichende Untersuchungen der Arbeitsgruppe um KABAT zeigten, daß die Antigenität verschieden hochmolekularer Dextrane mit steigendem Molekulargewicht zunimmt; bei Präparationen mit einem Molekulargewicht > 90 000 wird schon eine deutliche Bildung präzipitierender Antidextran-Antikörper hervorgerufen ([87]). Die gleiche Aussage brachten Versuche von RICHTER (146): Der Schweregrad passiver Dextran-Anaphylaxie bei Meerschweinchen nahm mit steigendem Molekulargewicht zu.

Ähnliches gilt für den Verzweigungsgrad der Dextran-Moleküle:

Die Immunogenität nimmt mit steigender Anzahl α-1,4-,bzw. α-1,3-verknüpfter Substituenten zu (8,76,85).

Folgerung:

Um die Immunogenität zu vermindern,ergeben sich für die heute gebräuchlichen klinischen Dextrane folgende Anforderungen:

1) Ein definierter Molekulargewichtsbereich mit niedrigem durchschnittlichem Molekulargewicht (<90 000),wie dies durch Säurehydrolyse erreicht wird (57,92,130).
2) ein niedriger Verzweigungsgrad,d.h. möglichst viele α-1,6-glykosidische Bindungen.Diese Bedingung wird bei den B 512-Dextranen erfüllt (62).

1.1.2. Spurenverunreinigungen.

Daß Spurenverunreinigungen bei der Auslösung von anaphylaktoiden Reaktionen nach Applikation von Infusionslösungen generell eine wichtige Rolle spielen können,wurde 1976 von RICHTER am Beispiel von Invert-Zucker-Lösungen gezeigt (152). Nachdem NEILL schon 1939 Spuren von Nativ-Dextran in "reiner" Sucrose nachgewiesen hatte (131),konnte RICHTER mit der hochempfindlichen Methode der "reversed single radial immunodiffusion" (RSRI) auch in Invert-Zucker-Infusionslösungen hochmolekulare Komponenten (HMK) wie Levane,Dextrane oder Hemicellulose nachweisen,die durch bakterielle Kontamination

der Sucrose während des Herstellungsprozesses entstanden waren. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde in Schweden für Invert-Zucker-Lösungen ein screening-Test eingeführt und die Chargen, in denen solche Spurenverunreinigungen nachgewiesen wurden, nicht zur Herstellung von Infusionslösungen zugelassen. Daraufhin nahm in den folgenden 2 Jahren die Häufigkeit anaphylaktoider Reaktionen nach Infusion von Invert-Zucker-Lösungen signifikant ab (152).

Bei Dextran (sowohl Nativ-Dextran als auch klinischem Dextran mit einem $\overline{M}_w$ von 70 000) fand RICHTER zunächst bei der Anwendung der heterologen passiven kutanen Anaphylaxie (PCA) keinen Anhalt für das Vorkommen hochmolekularer Restsubstanzen (144). Mit den sehr viel sensibleren Methoden, wie dem Ratten-Anaphylatoxin-Test, dem Limulus-Lysat-Test und dem Kaninchen-Pyrogen-Assay, gelang es HEDIN, bei sehr hochmolekularen Dextranen ($\overline{M}_w$ 500 x 10^3 und Nativ-Dextran) Komplement-aktivierende und endotoxinartige Verunreinigungen nachzuweisen, wobei die Komplementaktivierung unabhängig von der Dextran-Konzentration war. Mit klinischen Dextran-Lösungen (Macrodex^R und Rheomacrodex^R) dagegen war mit dem Anaphylatoxin-Test keine Komplement-Aktivierung zu beobachten. Diese Ergebnisse bedeuten, daß in den hochmolekularen Dextranen, aus denen die klinischen Dextrane gewonnen werden, durchaus Spurenverunreinigungen vorhanden sind, die jedoch bei niedermolekularem Dextran nicht mehr nachweisbar sind (63).

Die für die DIAR-Auslösung mögliche Beteiligung einer hochmolekularen Komponente (HMK) aus Hefe-Autolysat,das bei der Dextran-Herstellung als Stickstoffquelle für die Leuconostoc-Bakterien verwendet wird,konnte an HMK-hyperimmunisierten Hunden durch Provokation mit Macrodex nachgewiesen werden:HMK erwies sich bei diesen Tieren sowohl mitogen (Lymphozyten-Transformationstest) als auch anaphylaktogen,auf Dextran-Provokation wurde jedoch keine Reaktion beobachtet,sodaß eine Kreuzreaktivität von HMK gegen Dextran ausgeschlossen werden konnte.Da seit der Herstellung HMK-freier Chargen von Dextran 40,-60 und -70 die DIAR-Häufigkeit nicht signifikant abnahm,wurde gefolgert,daß HMK an der Auslösung einer DIAR von untergeordneter Bedeutung sein muß (164).

Bei Verwendung eines Anti-Leuconostoc-Serums konnten von HEDIN und RICHTER mit der RSRI-Technik jedoch auch in klinischen Dextranen Spurenverunreinigugen nachgewiesen werden (63) .Ob ein Zusammenhang zwischen diesen Kontaminanten und der Auslösung einer DIAR besteht,kann derzeit nicht beurteilt werden,da inzwischen vom Hersteller von Dextran 40,60 und 70 der Anteil dieser Komponente auf ein Minimum,d.h. unterhalb die Nachweisgrenze,gesenkt wurde.Eine prospektive Studie mit "gereinigten" Dextranen (Pharmacia),bzw. ein Vergleich dieser mit Dextranen anderer Hersteller steht bislang aus.

1.2. Patienten-bedingte DIAR-auslösende Faktoren.

1.2.1. Dextran-reaktive Antikörper (DRA).

a) reaginische DRA (IgE)

Der Ablauf der klinischen Symptomatik einer DIAR,der sehr dem klassischen Bild einer allergischen Sofort-Reaktion vom Typ I ähnelt,legt den Schluß nahe,daß an der Auslösung der Dextran-Unverträglichkeit reaginische Antikörper beteiligt sein könnten (6).BAILEY et al. beschreiben einen Fall eines Patienten mit DIAR,bei dem sie ein positives Ergebnis im Haut-Test (d.h. Quaddel-Bildung nach intracutaner Antigen-Injektion) und in der Prausnitz-Küstner-Reaktion beobachteten (8).Beide Methoden sind aber nicht sehr spezifisch,sodaß hiermit der Nachweis einer IgE-Beteiligung nicht mit Sicherheit erbracht werden kann.

Um die potentielle Rolle von zellfixiertem spezifischem IgG 4 überprüfen zu können,dessen Präsenz auch den positiven Haut-Test erklären würde,müßten zunächst die Immunglobulin-Subklassen-Spezifitäten aufgeklärt werden.

HEDIN et al. untersuchten die Seren von 100 Patienten,die auf Dextran-Infusion mit einer DIAR reagierten,sowie eine große Kontrollgruppe (n=75) mit der sehr empfindlichen Methode des Radio-Allergo-Sorbent-Tests (RAST) in vitro, sowie mit der passiven cutanen Anaphylaxie (PCA) in vivo am Affen auf Abweichungen der spezifischen IgE-Konzentration von den Normalwerten (16,62,64).Der RAST erbrachte bei 75 Patienten IgE-Werte im Normbereich,bei 25 Patienten

leicht erhöhte IgE-Konzentrationen ,sodaß eine IgE-Beteiligung zwar unwahrscheinlich ist,aber nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.Keiner der Affen,die nach der Methode der PCA untersucht wurden,reagierte nach passiver Sensibilisierung mit den Patienten-Seren auf Challenge mit klinischem Dextran;das bedeutet,daß reaginische DRA nicht nachgewiesen konnten.Auch die Provokation von Cynomolgus-Affen mit HMK und Hefe-Autolysat brachte im PCA-Test (nach Sensibilisierung mit Serum von 54 Patienten) keine positiven Ergebnisse.Darüberhinaus lagen die Gesamt-IgE-Spiegel,die mit dem Radio-Immuno-Sorbent-Test (RIST) bestimmt wurden, im Durchschnitt ebenfalls im Normbereich (161).

Folgerung:

Die bislang in vitro als auch in vivo durchgeführten Untersuchungen ergaben keinen Anhalt für die Beteiligung reaginischer Antikörper an der Auslösung einer DIAR;jedoch kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden,daß reaginischen DRA bei der DIAR beim Menschen keine kausalgenetische Bedeutung zukommt.

b) hämagglutinierende DRA (IgG,IgM)

Das Vorkommen präformierter Antidextran-Antikörper beim Menschen wurde erstmals in den 50er Jahren beschrieben (55,57,80). Mit der Methode der spezifischen Mikropräzipitation fanden JACOBSSON und WIKSTRÖM Dextran-reaktive Antikörper bei ca.5% gesunder Versuchspersonen (81).Von KABAT und Mitarbeitern wurde

die Abhängigkeit der DRA-Bildung von der Molekulargröße und die Non-Immunogenität der klinischen Dextrane nachgewiesen (86).Auch die wahrscheinlichen Entstehungsmechanismen für die DRA (s.u.:Sensibilisierung) waren schon weitgehend bekannt.

Aufschluß über die tatsächliche klinische Bedeutung der DRA bei der Auslösung einer DIAR erbrachten aber erst die gemeinsamen Untersuchungen von HEDIN,RICHTER (Uppsala) und RING et al. (München)(64,154,161).In einer großen Kontrollgruppe (n=736)von chirurgischen Patienten ohne DIAR-Anamnese konnten diese Autoren zunächst bei 63%(Uppsala),bzw.74%(München) der Patienten hämagglutinierende DRA mit der Technik der passiven Hämagglutination nachweisen,bei 14%,bzw.25% sogar ausgesprochen hohe Titer (positives Ergebnis bei Verdünnungsstufe 1:16 bis 1:256). Stellt man dieses Ergebnis,nämlich das auffallend häufige Vorkommen Dextran-reaktiver Antikörper bei der Kontrollgruppe, der relativ niedrigen Gesamtinzidenz der DIAR von 0,03% (163) gegenüber,so ist ein klarer Zusammenhang zwischen der Präsenz präformierter DRA und dem Auftreten einer DIAR nicht ersichtlich.In weiteren Untersuchungen an 123 Dextran-Reaktoren ergab sich aber eine deutliche Korrelation zwischen der DRA-Titerhöhe und dem Schweregrad der Reaktion.Besonders deutlich war dieser Zusammenhang,wenn Serumproben vor der Reaktion erhalten werden konnten,wie Abbildung 19 veranschaulicht (n=25).Die höchsten Titer wurden bei Patienten mit schwerer Reaktion auf Dextran-Infusion gefunden.Bei einem Patienten,der nicht erfolgreich reanimiert werden knnte,fand sich

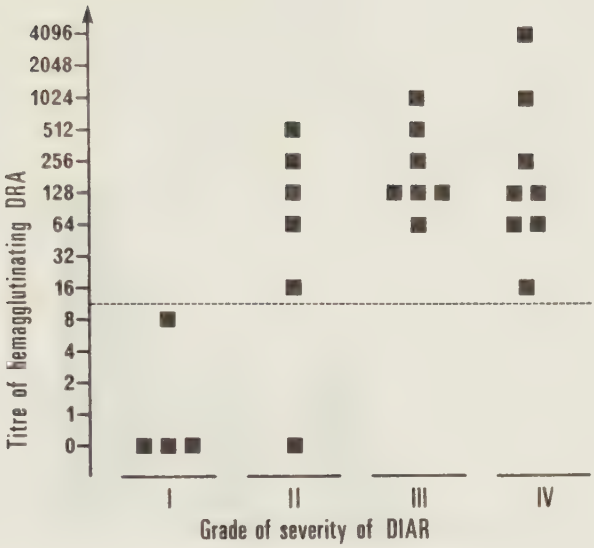


Abbildung 19: *Zusammenhang zwischen der Titerhöhe hämagglutinierender DRA im Serum von Patienten mit anaphylaktoider Reaktion nach Dextran-Infusion (n=25) und dem Schweregrad der Reaktion. Die Titer wurden in Serumproben vor DIAR bestimmt. (aus: HEDIN, 65)*

ein Titer hämagglutinierender DRA von 1:4096.In den Serumproben,die direkt nach der Reaktion entnommen wurden,fand sich ein deutlicher DRA-Titerabfall im Vergleich zur Titerhöhe vor Auftreten der DIAR.Dies bedeutet,daß die DRA mit dem Antigen Dextran im Reaktionsverlauf durch Bildung hochmolekularer Immunkomplex-Verbände gebunden und damit neutralisiert werden,d.h. sie können in der passiven Hämagglutination nicht mehr nachgewiesen werden.Innerhalb von 1-2 Wochen nach Reaktion stiegen die Titer langsam wieder an (vgl. dazu Abb.20).

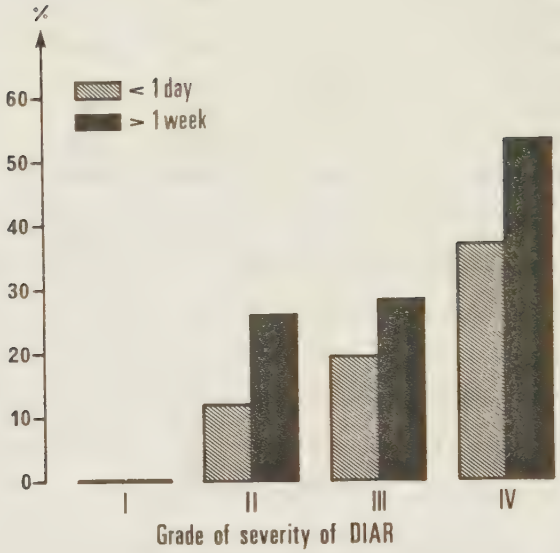


Abbildung 20: Prozentuale Häufigkeit hoher DRA-Titer (>1:16) von n=123 DIAR-Patienten in Beziehung zum Schweregrad der Reaktion. Die Serumabnahmen erfolgten am Tag der Reaktion und eine Woche bis 20 Monate später. (aus: HEDIN,[65])

Aus der positiven Korrelation zwischen der Titerhöhe hämagglutinierender DRA vor Auftreten der DIAR und dem klinischen Schweregrad der Unverträglichkeitsreaktion kann man auf die Beteiligung der DRA an der Auslösung einer DIAR schließen. Stellten DRA aber die einzige Voraussetzung dar, wäre aufgrund des häufigen Vorkommens dieser Antikörper eine sehr viel höhere Inzidenz anaphylaktoider Reaktionen nach Dextran-Infusion zu erwarten. Gegenwärtig werden weitere Untersuchungen

durchgeführt,um nachzuprüfen,inwieweit hier

- Immunglobulinklassen (wie z.B. IgG oder IgM),
- die Zusammensetzung der Immunglobulin-Unterklassen (wie z.B. IgG 1,IgG 2,usw.)

und - die Affinität der DRA

von Bedeutung sind (155).

Die Koinzidenz von DIAR und DRA-Nachweis,sowie das Fehlen reaginischer Antikörper,läßt bei schweren Reaktionen den Schluß zu,daß es sich bei der DIAR um eine "Aggregat-Anaphylaxie" im Sinne von BECKER und AUSTEN handelt (14).Hierbei sind weder das Antigen noch der spezifische Antikörper zellfixiert,es werden extrazellulär Ag-AK-Immunkomplexe gebildet,die intravasal die Freisetzung vasoaktiver Mediatorsubstanzen aus Mastzellen,Basophilen und Thrombozyten induzieren.

Bei leichten Reaktionen nach Dextran-Infusion wird ein anderer Pathomechanismus für deren Entstehung diskutiert (64, 159,160).Da diese Reaktionen gehäuft bei Atopikern auftreten -was für die schwere DIAR nicht nachgewiesen werden konnte -könnte es sich hier um eine klassische,IgE-vermittelte Reaktion handeln (23).Denkbar wäre auch ein direkter,immununspezifischer Dextran-Effekt auf Mastzellen oder basophile Zellen,wie dies z.B. bei anaphylaktoiden Reaktionen nach Applikation von Röntgen-Kontrastmitteln bekannt ist (166).Um dies nachweisen zu können,müßten bei Patienten mit leichter DIAR die Plasmahistaminspiegel vor und nach Applikation von Dextran bestimmt werden.

Bereits KABAT hatte nachgewiesen,daß es sich bei den Dextran-reaktiven Antikörpern um Antikörper mit einer Spezifität gegen ein Mehrfaches der α-1,6-verbundenen Glukose-Einheit handelt (86,89).TORII,SAKAKIBARA und KABAT beantworteten die Frage,wieviele Glukose-Einheiten notwendig sind,um den Antikörper-Reaktionsort vollständig auszufüllen,durch Untersuchungen mit der Methode der Hemmung der Antigen-Antikörper-Präzipitationsreaktion durch Oligosaccharide aufsteigenden Polymerisationsgrades (187).Sie fanden ein optimales Inhibierungsvermögen bei einem Hexasaccharid,mindestens aber war ein Trisaccharid erforderlich.Für das Dextran-Molekül bedeutet das also,daß jeweils 3 - 6 dieser Glukose-Einheiten eine antigene Determinante darstellen würden.Rein theoretisch sind hierbei verschiedene räumliche Positionen des Hexasaccharidmoleküls denkbar.Das bedeutet,daß es erstens auch eine Vielzahl verschiedener Anti-Dextran-Moleküle mit unterschiedlicher Ausdehnung des komplementären Bereichs geben und zweitens daraus eine erhöhte Kreuzreaktivität (s.u.) mit ähnlich aufgebauten Polysacchariden resultieren müßte (90).

c) Sensibilisierung

Die Frage nach dem Entstehungsmechanismus der DRA beantwortet zunächst schematisch Abbildung 21: Natives Dextran gelangt auf verschiedene Weise in den menschlichen Organismus. Es kommt z.B. in Haushaltszucker,Nahrungsmittelzusätzen, Zahnpasta und verschiedenen Kosmetika vor (8,58,72,142,165). Außerdem befinden sich im menschlichen Gastrointestinaltrakt

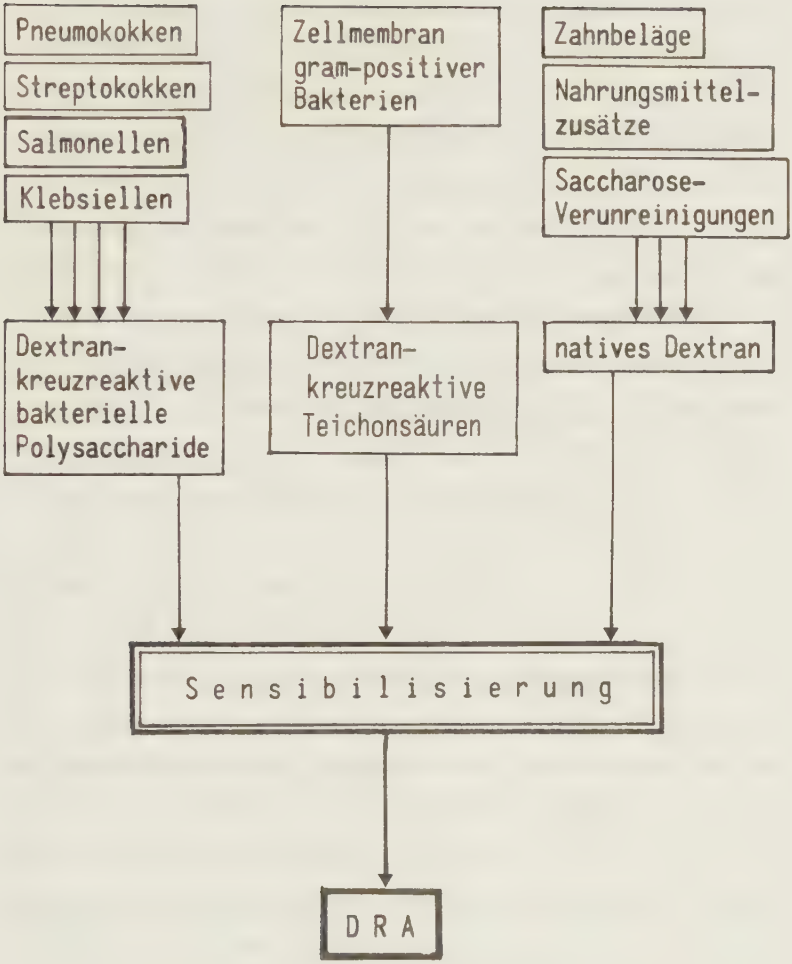


Abb.21: Potentielle Faktoren, die zur Sensibilisierung und damit zur Bildung Dextran-reaktiver Antikörper (DRA) im menschlichen Organismus führen können.

Dextran-produzierende Mikroorganismen (58,62,69,132,185). Eine zweite Möglichkeit besteht in der Sensibilisierung mit Makromolekülen,die gemeinsame antigene Determinanten mit Dextran,d.h. potentiell Kreuzreaktivität besitzen (124).Dies ist z.B. für Teichonsäuren nachgeweisen,die einen wichtigen Bestandteil der Zellmembran einiger gram-positiver Bakterien darstellen (7,28,91,169).Von viel größerer klinischer Bedeutung für die Auslösung einer DIAR ist aber,aufgrund der Häufigkeit und auch der chemischen Struktur,sicher die Sensibilisierung mit Dextran-kreuzreaktiven bakteriellen Kapselpolysacchariden,wie sie z.B. in verschiedenen Pneumokokken-Stämmen (50,51,52,53,69,70,71, 75,107,109),bei Streptokokken (8,36,205),Salmonella typhi (8,205) oder auch bei Klebsiellen (62) vorkommen.Die im Verlauf einer Auseinandersetzung des menschlichen Organismus mit diesen Kapsel-Antigenen gebildeten Antikörper sind z.B. bei Pneumokokken Typ II einer Kette aus 5 Glukose-Einheiten komplementär (50);dies entspricht der antigenen Determinante klinischer Dextrane.Diese Theorie wird auch durch Untersuchungsergebnisse von HOENE et al. unterstützt (75):Diese Autoren konnten an mit Anti-Pneumokokken-TypII-Antiserum passiv sensibilisierten Meerschweinchen durch Applikation von Nativ-, wie auch von klinischem Dextran einen tödlichen anaphylaktischen Schock auslösen.

Zusammenfassung:

- Reaginische Antikörper spielen bei der Auslösung einer DIAR vermutlich keine entscheidende Rolle.Im Serum von

Dextran-Reaktoren konnten weder spezifische DRA der IgE-Klasse noch ein erhöhter Gesamt-IgE-Spiegel nachgewiesen werden.

- Für die schweren DIAR-Fälle kommt den hämagglutinierenden DRA (IgG/IgM) eine wichtige kausale Bedeutung zu.Hier findet sich ein klarer Zusammenhang zwischen der DRA-Titerhöhe vor der Reaktion und dem DIAR-Schweregrad.
- Für eine leichte DIAR muß ein anderer Pathomechanismus diskutiert werden,hier handelt es sich vermutlich um eine direkte,immununspezifische Mediatorfreisetzung.
- Zur Sensibilisierung führt wahrscheinlich eine Auseinandersetzung des menschlichen Organismus mit kreuzreaktiven bakteriellen Polysacchariden.

1.2.2. Komplement-Aktivierung

Die Bedeutung des Komplementsystems für den Entstehungsmechanismus einer Unverträglichkeitsreaktion ist für zahlreiche Medikamente nachgewiesen (128,129,166).Auch für Dextran wurde seine kausale Rolle bei der Auslösung einer DIAR immer wieder diskutiert (48,84,98).

Grundsätzlich sind zwei Wege der Aktivierung dieser Kaskadenreaktion möglich (s.Abb.22):

- Der "klassische Weg" der Komplement-Aktivierung,der durch Bildung von Immunkomplexen (Antigen + IgG oder IgM) erfolgt (129),
- die sogenannte "Nebenschluß-Aktivierung" oder das Pro-

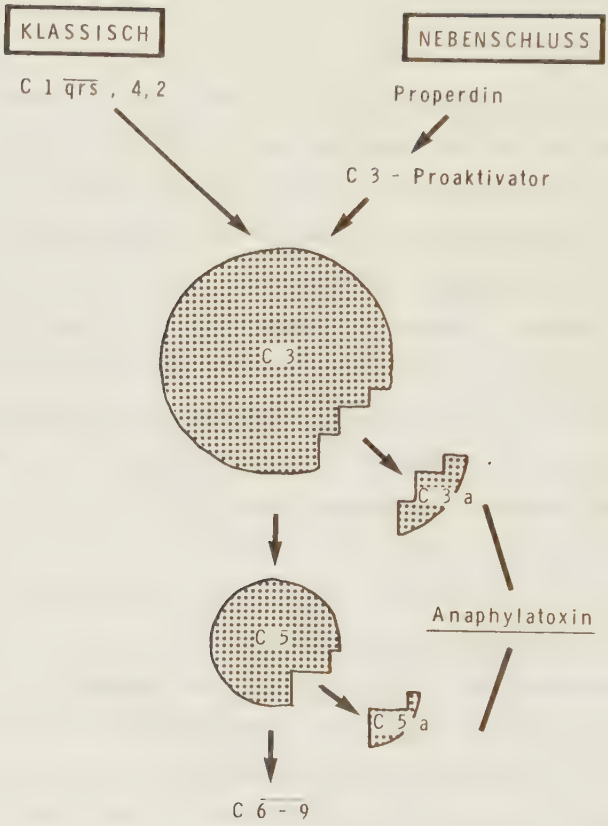


Abbildung 22: Schematische Darstellung der beiden Wege der Komplement-Aktivierung mit Anaphylatoxinbildung (nach RING,165).

perdinsystem,das z.B. durch Endotoxin,aber auch durch natürlich vorkommende Dextrane ausgelöst werden kann (140). Für Unverträglichkeitsreaktionen nach Anwendung von Röntgen-Kontrastmitteln wird dieser Pathomechanismus angenommen (5).

Für eine Beteiligung des Komplement-Systems an der DIAR über den klassischen Weg spricht der Nachweis hämagglutinierender Dextran-reaktiver Antikörper der Klassen IgG und IgM im Serum von Dextran-Reaktoren vor Applikation von Dextran. DRA bilden nach Antigen-Kontakt mit diesem Immun-Komplexe, die das Komplement-System aktivieren können.Um diese Hypothese zu prüfen,bestimmte HEDIN deshalb Komplement-Profile aus Serumproben von 95 Patienten,die eine DIAR zeigten (67). Bei Patienten mit leichter Reaktion (n=22) waren alle Serum-Komplement-Faktoren im Normbereich.Bei schweren Reaktionen (III+IV,n=73) fand sich bei allen Patienten ein signifikanter Abfall von C1q,die anderen Faktoren waren nicht merklich verändert;diese Befunde sprechen für die Aktivierung der klassischen Komplement-Kaskade bei der DIAR.Untersuchungen von HEDIN und SMEDEGARD an Cynomolgus-Affen bekräftigten diese Aussage (66):Gegen Ovalbumin immunisierte Cynomolgus-Affen (Titerstufe präzipitierender Antikörper am Ende der Immunisierung: 16-20) zeigten nach Challenge einen noch sehr viel deutlicher ausgeprägten Abfall der Komplement-Faktoren C1q,C3,C4 und C5.Die Tatsache, daß der Abfall dieser Faktoren bei Patienten weniger ausgeprägt ist,kann durch das Fehlen präzipitierender DRA und niedrigere Titer hämagglutinierender DRA erklärt werden.

Daß prinzipiell eine Interaktion von Dextran mit dem Properdin-System,d.h. eine Nebenschluß-Aktivierung möglich ist,wie sie z.B. für Pneumokokken-Kapsel-Polysaccharide bekannt ist (199),konnte in vitro von LEON nachgewiesen werden (98). Allerdings gilt dies nur für hochmolekulare ($M_n > 500\ 000$) oder vernetzte,nicht jedoch für die klinisch gebräuchlichen Dextrane.

Zusammenfassung:

- Für eine Beteiligung des Komplement-Systems besteht bei einer leichten DIAR kein Anhalt.
- In einigen Fällen einer schweren DIAR konnte eine Komplement-Aktivierung über den klassischen Weg nachgewiesen werden.
- Für eine Nebenschluß-Aktivierung des Komplement-Systems fand sich bei Patienten mit DIAR keine Bestätigung.

1.2.3. Histamin-Freisetzung

Es ist bekannt,daß durch intravenöse Applikation von Histamin das Erscheinungsbild der Anaphylaxie weitgehend nachgeahmt werden kann (77).Histamin bewirkt eine rasche Kontraktion der glatten Muskulatur,eine Vasodilatation und eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität.Eine generalisierte Anaphylaxie verläuft beim Menschen mit Juckreiz und Hautrötung am ganzen Körper,Dyspnoe infolge Bronchialkonstriktion und

Ödembildung in den Atemwegsschleimhäuten,sowie Kreislaufkollaps,u.U. mit irreversiblem Schock.Die klinische Symptomatik einer Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktion legt daher die Vermutung nahe,daß bei der Auslösung der Unverträglichkeitsreaktion die Freisetzung pharmakologisch hochaktiver Mediatoren wie Histamin,Serotonin,Bradykinin oder SRS-A eine maßgebliche Rolle spielen.

Für das Pfotenödem der Ratte nach Dextran-Injektion ist dieser Pathomechanismus nachgewiesen: Hier kommt es in Abhängigkeit von der Temperatur unter Ca^{++}-Beteiligung zu einer Mastzell-Aktivierung mit nachfolgender Histamin-Ausschüttung (10,11,39,111).Dieses Modell läßt sich aber, -entgegen der Meinung von MEIßNER (111) -,nicht auf den Patienten übertragen.Bei der Dextran-Unverträglichkeit der Ratte handelt es sich um eine speziesspezifische direkte Histamin-Freisetzung ohne immunologische Beteiligung, während bei der menschlichen DIAR humorale Deaxtran-reaktive Antikörper der Immunglobulinklassen IgG und IgM eine Rolle spielen (siehe oben,1.2.1.).Auf die Möglichkeit einer Histamin-Beteiligung an der Dextran-induzierten anaphylaktischen Reaktion haben erstmals BAUER und ÖSTLING hingewiesen (9).MISGELD und MENDE fanden bei einem Patienten über einen Zeitraum von 2 Wochen nach DIAR einen erhöhten Serum-Histamin-Spiegel (124).Hierfür allein die Dextran-Reaktion verantwortlich zu machen,ist aber sicher nicht ganz berechtigt,denn Histamin unterliegt in vivo

einem sehr rasch einsetzenden Katabolismus durch spezifische Enzyme (77),sodaß bei dem von diesen Autoren beobachteten Patienten z.B. eher ein Enzym-Mangel zu den gefundenen erhöhten Serum-Histamin-Werten geführt haben könnte.

Zu der Frage nach einem möglichen Zusammenhang zwischen einer Kolloid-Unverträglichkeit und Histamin-Freisetzung liegen von MEßMER und LORENZ ausführliche Untersuchungen vor,die zunächst an Hunden durchgeführt,später an gesunden Probanden und Patienten bestätigt wurden (100,112,113,186). Während eine schnelle Gelatine-Infusion (Haemaccel^{R}) bei 16 von 19 Probanden eine deutliche immununspezifische Erhöhung des Plasma-Histamin-Spiegels (fluorometrische Bestimmung) bewirkte,deren Ausmaß eine klare Korrelation zwischen erhöhtem Histamin-Spiegel und klinischer Reaktion (Magensaftsekretion,bzw.arterielle Hypotension)ergab,zeigte sich nach rascher Dextran-Infusion zwar bei 8 von 25 Probanden ein leichter Anstieg der Histamin-Werte,es bestand aber kein Zusammenhang mit der klinischen Symptomatik (100).Bei zwei Patienten mit anaphylaktoider Reaktion nach Gelatine-Infusion konnte ein ausgeprägter Anstieg der Plasma-Histamin-Spiegels gemessen werden,der eine zeitliche Koinzidenz mit der Erhöhung der Herzfrequenz zeigte.Im Gegensatz dazu wurden bei einem Probanden mit leichter anaphylaktoider Reaktion nach Dextran-Gabe,aber auch bei einem Patienten mit tödlich verlaufener DIAR normale Histamin-Werte direkt nach der Reaktion gemessen (100,101,112,186).

Die Kreislaufreaktion nach Gelatine-Infusion kann durch pro-

phylaktische Gabe von H_1- und H_2-Rezeptoren-Blockern (Dimethpyrinden und Cimetidin) erfolgreich verhindert werden (102,104).Beim Hund jedoch erreichen die Plasma-Histamin-Konzentration und die Kreislauf-Parameter auch ohne diese Maßnahmen bis 9 min. nach Reaktionsmaximum wieder die Ausgangswerte (113).

Folgerung:

- Für anaphylaktoide Reaktionen nach Gelatine-Infusion konnte ein Zusammenhang zwischen Histamin-Freisetzung und dem Ausmaß der Reaktion nachgewiesen werden,für eine Dextran-induzierte anaphylaktoide Reaktion wurde eine Histamin-Beteiligung nicht nachgewiesen,kann aber nicht gänzlich ausgeschlossen werden.
- Entgegen den Empfehlungen einiger Autoren (111,141) erscheint die Anwendung von Antihistaminika zur DIAR-Prophylaxe nicht sinnvoll,da hier ein anderer Pathomechanismus vorzuliegen scheint.

1.2.4. Enzymdefekt (Anaphylatoxin-Inhibitor)

Auf der Suche nach dem Pathomechanismus der Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktionen wurden vereinzelt auch genetisch fixierte Defekte diskutiert (124).Die im Verlauf der Komplement-Reaktion abgespaltenen biologisch aktiven

Anaphylatoxine $C3_a$ und $C5_a$ werden im gesunden Organismus sehr schnell von einem Enzym,der Serumcarboxypeptidase B (SCPB) oder auch Anaphylatoxin-Inhibitor (AI),inaktiviert 19,20).Setzt man eine Komplement-Aktivierung im Verlauf der DIAR voraus,wäre denkbar,daß sowohl ein Anaphylatoxin-Inhibitor-Mangel als auch eine verminderte Aktivität dieses Enzyms zu einem Konzentrations-Anstieg der Histamin-freisetzenden Anaphylatoxine und damit zu einer Potenzierung der Kreislaufreaktion führen könnte.HEDIN und RANDEN konnten jedoch in Untersuchungen an 107 Patienten,die nach Dextran-Infusion eine Unverträglichkeitsreaktion gezeigt hatten,normale SCPB-Spiegel im Serum nachweisen (68).Demnach scheint ein AI-Mangel keine pathogenetische Rolle bei der Auslösung der DIAR zu spielen.

Folgerung:

Ein Anaphylatoxin-Inhibitor-Mangel konnte bei Dextran-Reaktoren nicht nachgewiesen werden.

2. Möglichkeit einer DIAR-Prophylaxe - das Hapten-Prinzip.

2.1. Allgemeine theoretische Grundlagen.

Aufgrund der bisherigen Ausführungen zu den potentiellen Pathomechanismen,die die Auslösung einer DIAR bewirken,läßt sich zusammenfassend feststellen,daß es sich bei diesen Unverträglichkeitsreaktionen höchstwahrscheinlich um eine "Aggregat-Anaphylaxie" (14) unter Beteiligung Dextran-reaktiver Antikörper handelt.

Abbildung 23 soll -stark vereinfacht- veranschaulichen,wie man sich diese Aggregat-Anaphylaxie vorstellt,bei der spezifische IgG- und IgM-Antikörper beteiligt sind (linke Bildseite): Für die Entstehung eines multimolekularen Netzes aus Antigen-Antikörper-Immunkomplexen sind polymere Antigen-Moleküle die Voraussetzung,die mindestens 3 antigene Determinanten aufweisen,also funktionell plurivalente Antigene darstellen,- nur dann kommt es über eine Komplement-Aktivierung zur Mediator-Freisetzung und damit zum typischen klinischen Ablauf der Reaktion (33).Bei den klinischen Dextranen handelt es sich um solche plurivalenten Antigene: Wenn man davon ausgeht,daß jeweils 3-6 Glukose-Einheiten eine antigene Determinante bilden (187),besteht Dextran 40 bei einem mittleren Molekulargewicht von 40 000 aus 25-50, und die höhermolekularen Dextrane 60 und 75 aus 50-100 antigenen Determinanten pro Molekül (150).

Allein aufgrund dieser Vorstellung über den Ablauf einer Immun-Komplex-Reaktion kann man zu der Überlegung kommen,

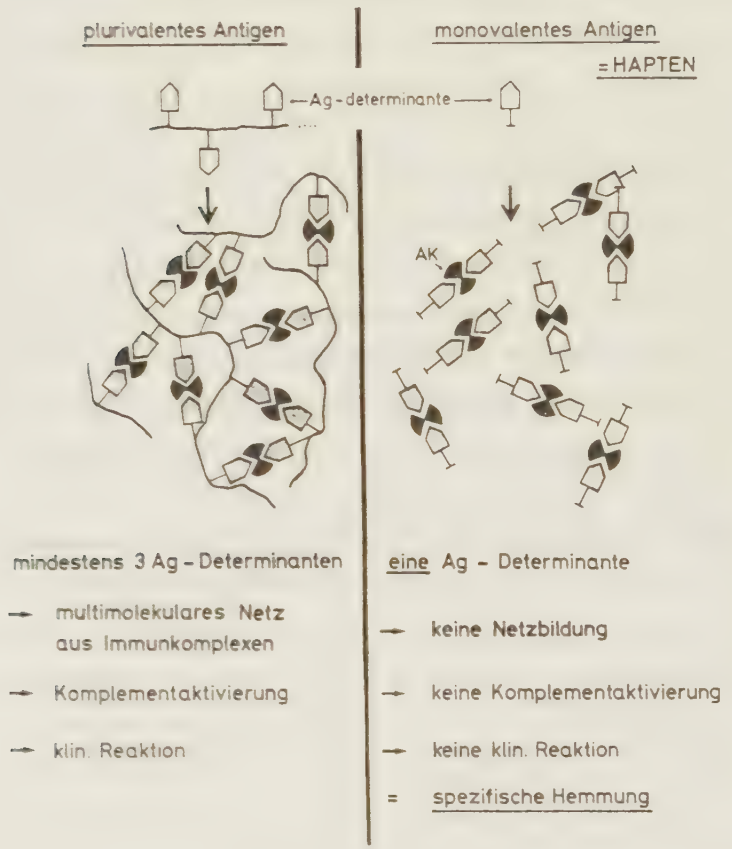


Abbildung 13: *Ablauf einer Immunkomplex-Reaktion (linke Bildseite) und spezifische Hemmung dieser Reaktion durch ein monovalentes Hapten (rechte Bildseite).*

daß es möglich sein müßte,durch ein monovalentes Hapten eine spezifische kompetitive Hemmung zu erreichen (s. rechte Bildseite).Dieses Hapten müßte gerade groß genug sein,um die Antikörper-Bindungsstelle räumlich auszufüllen,aber so klein, daß keine Komplexe entstehen könnten.Auf diese Weise wäre eine Netzbildung nicht möglich,damit auch keine Komplement-Aktivierung,-die klinische Reaktion würde so unterbunden (33).

Bei der Literatur-Durchsicht finden sich schon 1954 Untersuchungen von GLYNN und Mitarbeitern über eine in vitro-Hemmung der Präzipitation zwischen nativem Dextran und Anti-Dextran durch niedermolekulare Dextrane (47).Durch Untersuchungen der Präzipitationshemmung mit verschiedenen Isomaltose-Oligosacchariden entdeckte KABAT in ähnlichen Experimenten die genaue Struktur und räumliche Ausdehnung der Antigen-Bindungsstelle,indem er nachwies,daß sich die beste Hemmung bei der Penta-,Hexa- und Heptaose ergab (89).HOENE et al. stellten 1961 fest,daß die Ausfällung von Dextran mit Antipneumokokken-TypII-Serum in der Präzipitationsreaktion mit absteigender Molekülgröße der Dextran-Fraktionen abnahm (75).Auch beim passiv mit Anti-Pneumokokken-Typ II-Anti-Kaninchen-Serum immunisierten Meerschweinchen fand er nur bei sehr hochmolekularen Dextranen eine Anaphylaxie,nicht hingegen bei niedermolekularen.Untersuchungsergebnisse von HÄMMERLING und WESTPHAL aus dem Jahr 1967 erbrachten schließlich eine Hemmung der passiven Hämagglutination in Gegenwart von löslichem Hapten,

einem Oligosaccharid (60).RICHTER beobachtete eine Inhibition sowohl der heterologen PCA durch Isomaltose-Oligosaccharide (147),als auch der spezifischen Präzipitation in der reversed-single radial immunodiffusion (RSRI) (145).Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Autoren überein (29,137). RICHTER konnte darüberhinaus zeigen,daß es möglich ist,am mit Kaninchen-Antidextran-Serum passiv sensibilisierten Meerschweinchen die anaphylaktischen Symptome auf Provokation mit hochmolekularem Dextran 70 durch gleichzeitige Injektion von niedermolekularem Hapten-Dextran (dx 1,M_w 1000) abzuschwächen oder zu verhindern (146).Dabei war eine kleine Menge nicht-anaphylaktogenen Hapten-Dextrans ausreichend, um die Bindung des multivalenten Dextrans 70 an die Anti-Dextran-Antikörper zu hemmen.Dieser Befund spricht dafür,daß es sich bei den DRA um Antikörper mit niederer Affinität handelt (31,149,150). Als limitierende Faktoren für das Ausmaß der Anaphylaxie erwiesen sich in RICHTERs Untersuchungen:

1) die Menge der Antikörper und
2) die Dosis sowie die Molekülgröße der für den Challenge benützten Dextran-Fraktion (145,146).

Bei Meerschweinchen handelt es sich dabei um zellfixierte Antikörper der Klasse IgE,bei Hunden dagegen,entsprechend den DRA beim Menschen,um zirkulierende Antikörper der Klassen IgG und IgM (156).

Die klinische Anwendbarkeit des Konzepts dieser sogenannten Hapten-Hemmung wurde erstmals durch DE WECK am Modell der Penicillin-Allergie gezeigt (33,34).Er konnte zunächst anhand tierexperimenteller Untersuchungen,später durch Haut-

teste am Patienten und schließlich in der klinischen Anwendung mit Unterdrückung der spezifischen Reaktion bei Patienten mit bekannter Penicíllin-Allergie beweisen,daß es sich hierbei um eine kompetitive Reaktion zwischen dem monovalenten hemmenden Hapten (Penicilloyl-Antigene) und dem pluri-valenten auslösenden Antigen handelte.

Für die klinische Anwendung als DIAR-Prophylaxe sind zwei Applikationsformen des Hapten-Dextrans im Überschuß denkbar:

1) Hapten-Dextran als Vorinjektion vor Gabe des anaphylaktogenen höhermolekularen Dextrans.
2) Als sogenannte "eingebaute" Hapten-Hemmung,d.h. gleichzeitige Injektion von Hapten-Dextran mit klinisch üblichem Dextran (149).

Dextranlösungen sind polydisperse Lösungen,d.h.sie enthalten Moleküle unterschiedlichen Molekülgewichts.Dextran 40 enthält,-gegenüber Dextran 60/70,-einen höheren Prozentsatz sehr niedermolekularer Anteile; Moleküle mit einem Molekülgewicht unter 3000 im Dextran 40 könnten als Hapten wirken und bei Infusion dieser Lösung zirkulierende DRA blockieren. Als Folge davon wäre bei Dextran 40 eine geringere Anzahl Dextran-induzierter anaphylaktischer Reaktionen zu erwarten.RING und MEßMER haben dies bereits früher nachgewiesen (163).

Molekülgröße des Hapten-Dextrans: Bei maximaler Sensibilisierung erweist sich für die Hapten-Hemmung eine Dextran-Fraktion mit einem Molekulargewicht von ca. 1000 (Isomaltohexaose) als am geeignetsten (147).Kleinere Moleküle würden die Antikörper-Bindungsstelle räumlich nicht völlig

ausfüllen,bei größeren Molekülen wäre die Monovalenz nicht gesichert,es könnten sich bereits größere Molekularverbände bilden.

Folgerung:

Die Möglichkeit einer DIAR-Prophylaxe durch das Prinzip der Hapten-Hemmung wurde von RICHTER am Meerschweinchen bewiesen.Hierbei handelt es sich um eine kompetitive Hemmung der Reaktion zwischen dem plurivalenten auslösenden Antigen und den DRA durch das monovalente hemmende Hapten.

3.2. Hapten-Hemmung der DIAR am Hund - eigene Untersuchungen.

Aufgrund der erwähnten experimentellen und klinischen Ergebnisse haben wir folgende Arbeitshypothesen aufgestellt:

1) Für die DIAR ist höchstwahrscheinlich eine Immunkomplex-Reaktion mit Beteiligung Dextran-reaktiver Antikörper verantwortlich.

2) Diese Reaktion sollte durch das Prinzip der Hapten-Hemmung verhindert oder zumindest abgeschwächt werden können.

Um diese Hypothesen zu prüfen,wurde ein tierexperimentelles Modell entwickelt,das Vergleiche mit der klinischen Situation erlaubt.Durch aktive Immunisierung von Hunden sollte die Bildung Dextran-reaktiver Antikörper induziert

und damit zu Versuchsbeginn eine Ausgangslage geschaffen werden,die der von Patienten vor Auftreten einer Unverträglichkeitsreaktion entspricht.Durch die Messung hämodynamischer Parameter sollte die Dextran-Reaktion quantifiziert werden,um mit dem Schweregrad der DIAR beim Patienten verglichen werden zu können.Wenn es möglich ist,diese Bedingungen am Hundemodell zu erfüllen,dann könnte hiermit der Pathomechanismus der DIAR weiter aufgeklärt werden.Die klinische Symptomatik der DIAR beim Patienten verläuft nämlich häufig so hochakut,daß sofort die Therapie eingeleitet werden und wissenschaftliches Interesse zurückstehen muß; aus diesem Grund sind von den zahlreich beobachteten Patienten mit DIAR meist nur unvollständige,meist deskriptive Befunde,aber keine Meßwerte vorhanden.

2.2.1. Präformierte DRA beim Hund.

Bereits vor der ersten Immunisierung mit Edestin-Dextran wiesen die meisten unserer Versuchshunde Titer präformierter Dextran-reaktiver Antikörper auf,zum Teil sogar auffallend hohe Titer.Vergleichbare Befunde (Titer hämagglutinierender DRA $\geq$ 1:16) sind auch für Patienten und eine große Kontrollgruppe gesunder Probanden nachgewiesen (165).Diese Tatsache spiegelt vermutlich die Auseinandersetzung mit bakteriellen Infektionen wider,in deren Verlauf Antikörper gegen Polysaccharid-Bestandteile der Bakterienwand gebildet werden,die mit Dextran kreuzreagieren können.Dies ist z.B, für Pneumokokken,Streptokokken,Staphylokokken und Klebsiellen bekannt (36,62,70,71,75,107,131,205).

2.2.2. Zur Immunogenität von Edestin-Dextran am Hund.

Die heute verwendeten klinischen Dextrane sind allein weder für den menschlichen Organismus noch für die meisten Tier-Spezies immunogen (47,57,86).Auch die hochmolekularen und stärker verzweigten Dextrane sind,wie auch isolierte bakterielle Kapsel-Polysaccharide,nur schwache Immunogene (148). Im Gegensatz dazu besitzen Proteine (z.B. bakterieller Herkunft) in hohem Maße die Fähigkeit,eine Immunantwort auszulösen.Sie sind sowohl immunogen,d.h. sie induzieren die Bildung spezifischer Antikörper,als auch antigen,indem sie mit diesen Antikörpern reagieren können (77,144).Werden nun diese hochimmunogenen Proteine mit kovalenter Bindung an die isoliert nicht oder nur schwach immunogenen Polysaccharide gekoppelt,so kann durch Immunisierung mit diesem Eiweiß-Polysaccharid-Konjugat eine starke Antikörperbildung hervorgerufen werden.Es entstehen sowohl Antikörper mit einer Spezifität für das Trägereiweiß als auch Antikörper gegen das Hapten-Polysaccharid (96).Als Beispiele möglicher Carrier-Proteine für Dextrane wurden von RICHTER Ovalbumin, Hämocyanin und bovines Serum-Albumin untersucht,wobei die stärkste Anti-Dextran-Immunantwort durch Hämocyanin-Dextran ausgelöst wurde (148).Von HÄMMERLING liegen Untersuchungen am Kaninchen zur Immunogenität von Edestin-Dextran,dem von uns verwendeten Protein-Polysaccharid-Konjugat,vor,deren Resultate durch unsere positiven Immunisierungsergebnisse bestätigt wurden (59).Wir konnten in der passiven Hämagglu-

tination im Verlauf der Immunisierung einen deutlichen Titeranstieg der DRA beobachten.Dieser Anstieg verhielt sich umgekehrt proportional zum Ausgangstiter spontan vorhandener DRA.

2.2.3. Die DIAR am Hund.

Die Anaphylaxie wird allgemein definiert als akut auftretende,systemische,allergische Reaktion vom Sofort-Typ,die häufig unter dem klinischen Bild eines Schocks abläuft (14). Zur Manifestation kommt es durch eine Immunkomplex-bedingte Freisetzung pharmakologisch hochaktiver Mediatorsubstanzen wie z.B. Histamin,Serotonin,Kininen,SRS-A u.a. aus Mastzellen,Basophilen und Thrombozyten (14,65).Die Symptomatik der Anaphylaxie läuft nicht nach einem bestimmten Reaktionsmuster ab,sondern variiert erheblich in Abhängigkeit von Spezies,Antigen-,bzw.Antikörpermenge,Antikörperklassen,etc. Der eigentliche Pathomechanismus,der diesen Reaktionen zugrundeliegt,ist aber immer folgender: Durch Reaktion von Antigen und spezifischem Antikörper kommt es zu einer Immunkomplexbildung und zur Mediator-Freisetzung.Bei der sogenannten Aggregat-Anaphylaxie handelt es sich hierbei, im Gegensatz zu der zellvermittelten Reaktion unter Beteilignung reaginischer Antikörper,um eine Immunreaktion zwischen zirkulierenden Antikörpern (IgG und IgM) und dem Antigen.

Das Vorhandensein humoraler spezifischer IgG- und IgM-Antikörper bei den aktiv sensibilisierten Hunden,sowie deren Neutralisation nach Provokation mit Dextran 60,spricht für diese Form der anaphylaktischen Reaktion.

Beim Hund kommt es zur Anaphylaxie meist durch Mastzelldegranulation mit nachfolgender Histamin- und Heparin-Liberierung,vor allem aus der Leber (82,178).Für die Annahme einer Histamin-Beteiligung spricht auch die Tatsache,daß durch alleinige intravenöse Histamin-Applikation die Symptomatik der Anaphylaxie beim Hund nachgeahmt werden kann (77).Dabei ist aber sowohl die Reaktionsbereitschaft als auch das Ausmaß der Reaktion und auch der Histamingehalt der einzelnen Organe bei verschiedenen Spezies unterschiedlich.

Histamin bewirkt am Hund:

1) eine rasche Konstriktion der glatten Muskulatur,die u.a. den häufig auftretenden Bronchospasmus erklärt. Ein Hinweis hierfür ist bei unseren kontrolliert beatmeten Hunden die Zunahme des Widerstandes in den Atemwegen,bei unverändertem Atemvolumen und Atemfrequenz. In der Leber,die vor allem beim Hund einen sehr hohen Histamingehalt aufweist,kann es durch Konstriktion postsinusoidaler Venen zum sogenannten Leber-Outflow-Block als Ursache eines raschen HMV-Abfalles kommen (114).

2) hämodynamische Veränderungen durch massive Dilatation der Arteriolen.Durch gleichzeitige Konstriktion der postkapillären Venolen kommt es zur Volumensequestrierung mit nachfolgender Verminderung des venösen Rückstroms und damit

auch des Herz-Zeit-Volumens (118).Beim Hund findet die Volumenseguestrierung durch Konstriktion der postsinusoidalen Lebersphinkteren vor allem im Splanchnikusgebiet bei gleichzeitiger portaler Hypertension und Leberstauung statt (201).Der massive Abfall des arteriellen Mitteldruckes und des Herz-Zeit-Volumens während der DIAR bei unseren Versuchshunden läßt sich somit als Folge eines verminderten venösen Rückstroms und einer Dilatation im Bereich der Arteriolen erklären.

3) eine direkte Steigerung der Kapillarpermeabilität, wodurch die Verminderung des zirkulierenden Blutvolumens durch transkapilläre Plasmaverluste mit zunehmender Schockdauer noch verstärkt wird.

Nach generalisierter Entleerung der Histamin-Depots folgt eine Refraktärzeit,während der ein erneutes anaphylaktisches Geschehen nicht auslösbar ist (43,77).Hinweise für diese Refraktärzeit haben wir auch in unseren Versuchen gefunden: Dextran 60,welches unmittelbar nach einer DIAR appliziert wurde,wurde in der Regel toleriert: Die Schocksymptomatik verschlechterte sich nicht weiter.Die durch die erfolgreiche Schockbehandlung eventuell neu in den Intravasalraum gelangenden DRA waren -bei gleichzeitigem Antigenüberschuß- nicht in der Lage,eine erneute DIAR auszulösen.

Das Verhalten des peripheren Widerstandes im anaphylaktischen Schock ist nicht einheitlich und im Falle einer Histamin-

Beteiligung dosisabhängig: In früheren Untersuchungen am Hund wird sowohl über eine Widerstandserhöhung als auch über eine Verminderung berichtet (25,180).Das Verhalten des pulmonalen Widerstandes korreliert jedoch -wie auch die anderen oben genannten hämodynamischen Parameter- direkt mit dem Ausmaß der Reaktion.Bie den Tieren mit ausgeprägter DIAR steigt der PVR aufgrund einer pulmonalen Vasokonstriktion (erhöhter kapillärer Verschlußdruck) steil an.

Der Verlauf der von uns beobachteten anaphylaktischen Reaktion nach intravenöser Dextran-Applikation bei Hunden läßt als einen möglichen Mediator für diese Reaktion Histamin vermuten.Da keine Histamin-Bestimmungen im Plasma durchgeführt wurden,kann diese Vermutung nicht verifiziert werden.Als zweites mögliches System zur Liberation von Mediator-Substanzen kommt das Gerinnungssystem in Frage, das bei vielen immunologischen Reaktionen involviert ist (94).

a) Verhalten der Thrombozyten und Leukozyten während der Dextran-induzierten Anaphylaxie.

Die Beteiligung von Thrombozyten und Leukozyten im Rahmen immunologischer Reaktionen ist seit langem bekannt (94, 167).Zum klassischen Bild einer Anaphylaxie gehört sowohl eine Neutropenie als auch eine stark verminderte Thrombozytenzahl (66,201).Auch unsere Untersuchungsergebnisse bestätigen diesen Befund: Alle Tiere mit ausgeprägtem Schock

nach Dextran-Challenge zeigten einen Thrombozyten- und Leukozytensturz;bei den drei Tieren,die trotz Hapten-Applikation massiv auf die Dextran-Provokation reagierten,waren vergleichbare Veränderungen auch zu beobachten,der Abfall der Thrombo- und Leukozytenzahl war jedoch zeitlich verzögert.

Der Thrombozytensturz nach Dextran-Provokation bei schwerer DIAR kann durch verschiedene Mechanismen bedingt sein:

1) hämodynamisch:

   Die schockbedingte Störung der Mikrozirkulation hat eine verminderte Strömungsgeschwindigkeit im Kapillargebiet und einen Anstieg der Blutviskosität in den postkapillären Venolen zur Folge,wodurch eine Thrombozytenaggregation in den Venolen begünstigt wird (116,117,138,181).

2) immunologisch:

   Im Ablauf einer immunologischen Reaktion besteht eine Interaktion zwischen der Immunkomplex-Reaktion und dem Verhalten der Thrombozyten,(siehe Abbildung 24): Die Thrombozyten,denen als Mediatorzelle eine wichtige Rolle bei der anaphylaktischen Reaktion zukommt (14),werden bei der Aggregat-Anaphylaxie erstens direkt von den Antigen-Antikörper-Komplexen zur Freisetzung von Mediator-Substanzen stimuliert (66);außerdem haben sowohl die Komplement-Aktivatoren als auch einige Faktoren des aktivierten Komplementsystems (C4/C6) Einfluß auf

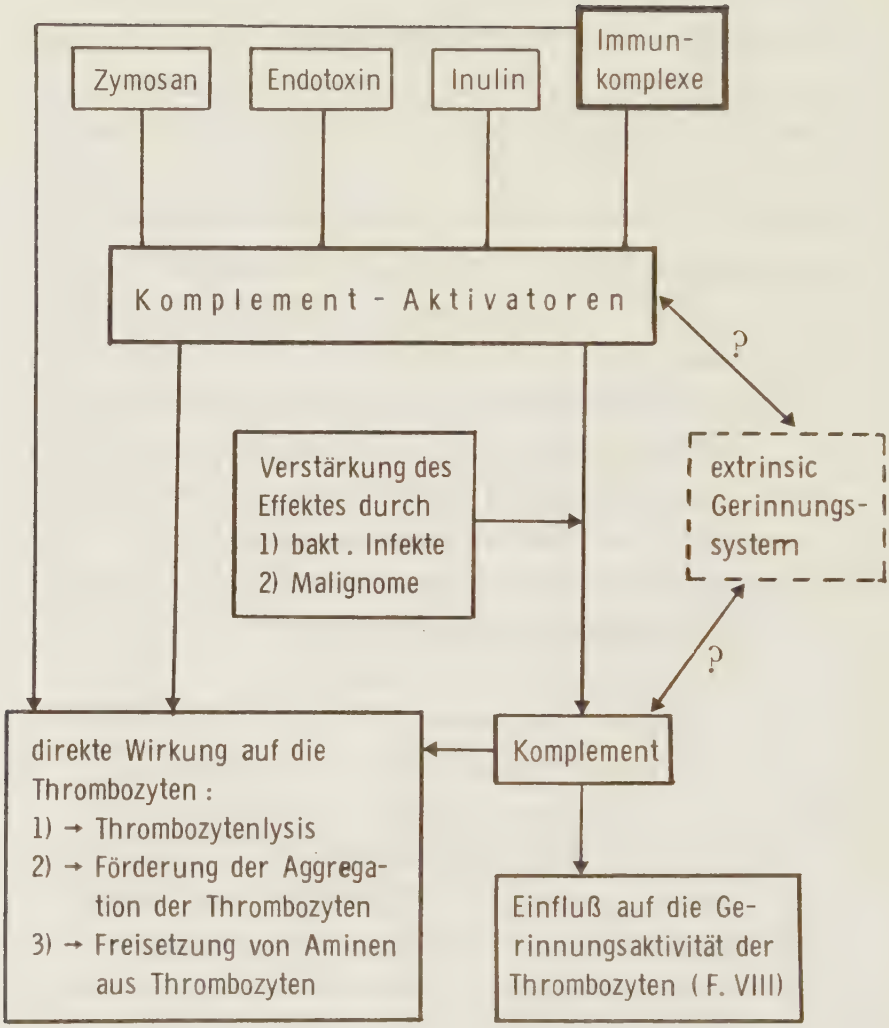


Abbildung 24: Interaktion einer Immunkomplex-Reaktion mit dem Komplementsystem, dem Gerinnungssystem und den Thrombozyten.

die Thrombozytenfunktion.In Abwesenheit dieser Komplementfaktoren tritt eine erhebliche Verzögerung des Gerinnungsmechanismus im ersten Schritt des intrinsic Systems (Hagemannfaktor XII) ein (204).Die Voraussetzung für diese Komplementwirkung ist aber eine vorausgegangene Aktivierung durch z.B. Immunkomplexe (13,61,176,184).Verstärkt wird dieser Effekt durch bakterielle Infektionen oder bestehende Malignome (143).Diese Tatsache könnte das gehäufte Auftreten einer DIAR bei Patienten mit chronischen Entzündungen oder Carcinomen erklären (165).Die Komplement-Aktivatoren induzieren die Freisetzung biogener Amine,triggern die Thrombozyten-Aggregation,die beim Hund im Verlauf einer anaphylaktischen Reaktion besonders stark ausgeprägt ist (133),und bewirken unter bestimmten Voraussetzungen schließlich Lyse der Thrombozyten (108,126).

Im Verlauf unserer Untersuchungen fand sich bei den Hunden mit schwerer DIAR zwei Minuten nach Provokation mit Dextran 60 ein Thrombozytensturz auf ca.50% des Ausgangswertes.Dies könnte für eine Immunkomplex-bedingte Thrombozyten-Aggregation in der Lunge sprechen (erhöhter PVR!) (204).Aufgrund der Beziehung zwischen der Verminderung der Thrombozytenzahlen und dem klinischen Ausmaß der Reaktion (s.Ergebnisse,Abb.9) läßt sich vermuten,daß von Thrombozyten freigesetzte Mediatoren für die klinische Symptomatik mitverantwortlich sind.Daß sich die Thrombozytenzahl innerhalb der Beobachtungszeit nicht normalisiert,kann als irreversible Schädigung der Thrombozyten durch Mediator-Release aufgefaßt werden.

Am Ablauf einer Immunkomlex-Reaktion sind auch die Leukozyten entscheidend beteiligt.Die basophilen Leukozyten stellen selbst Mediatorzellen dar.Außerdem induzieren die Leukozyten die Mediator-Freisetzung aus den Thrombozyten und greifen in das Gerinnungssystem ein (15,73,175).Bei unseren Versuchen erwies sich der Abfall der Gesamtleukozytenzahl als empfindlicher Indikator für das Ausmaß der klinischen Reaktion,die Zahl der Leukozyten normalisierte sich,parallel zur Symptomatik,schneller als die der Thrombozyten.Bei schwerem DIAR-Verlauf sinken sie auf ca. 42% des Ausgangswertes ab;eine mögliche Erklärung wäre eine Adhärenz an Immunkomplexe durch Chemotaxis (14,27, 197).Die Tatsache,daß sich die Leukozytenzahlen noch während des Versuchs wieder normalisieren,läßt darauf schließen,daß die Leukozyten -im Gegensatz zu den Thrombozyten- nicht irreversibel geschädigt werden.

b) Verhalten der DRA-Titer im Verlauf der DIAR.

Die Titer Dextran-reaktiver Antikörper unterscheiden sich zu Versuchsbeginn bei den nicht-reagierenden Hunden der Kontrollgruppe (I_C) nicht signifikant von den Titern der Tiere,die eine DIAR zeigten (I_A und I_B).Nach erfolgter Immunisierung ist der Titer der Hunde mit dem von Patienten vor Auftreten einer DIAR gut vergleichbar (165).Im Verlauf der Reaktion nach

Dextran-Challenge zeigten sich aber innerhalb der Untergruppen A,B und C deutliche Unterschiede im Verhalten der DRA: Es fand sich eine direkte Korrelation zwischen dem Reaktionsschweregrad und dem Ausmaß der Antikörper-Neutralisation,d.h. des Titerabfalls.Bei den Hunden mit schwerer Reaktion fielen die DRA-Titer massiv ab mit einer Reduktion auf ca. 1/32 des Ausgangswertes.Dies deutet darauf hin,daß es sich um eine Reaktion hochaffiner Antikörper handelt.Im Gegensatz dazu fielen die Titer bei den schwach reagierenden Tieren nur auf ca. 1/4 des Kontrollwertes ab,was für die Anwesenheit von DRA mit geringerer Affinität spricht.Die Abhängigkeit der Reaktionsbereitschaft von der Antikörperaffinität läßt sich mit dem Massenwirkungsgesetz erklären: Die Gleichung der Immunkomplexreaktion sähe folgendermaßen aus

$$Ag + AK \rightleftharpoons Ag\text{-}AK\text{-}Komplex.$$

Werden Komplexe mit hochaffinen DRA gebildet,verschiebt sich das Gleichgewicht nach der Seite der Immunkomplexe,während es bei Komplexen mit niederaffinen DRA wieder zu einer Dissoziation der Komplexe kommt,wodurch das Gleichgewicht nach links verschoben wird.Im ersten Fall ist durch die Stabilität der Immunkomplexe die Neigung zur Bildung vernetzter Molekülverbände höher,d.h. die Manifestation der anaphylaktisch/anaphylaktoiden Reaktion wird dadurch gefördert.

Die Tatsache,daß einige Hunde trotz hoher Ausgangstiter auf Dextran-Challenge nicht reagierten,spricht dafür,daß für die Auslösung einer DIAR das Vorhandensein Dextranreaktiver Antikörper allein nicht genügt (vgl.S.79).

Neben dem Affinitätsgrad der DRA dürften DRA unterschiedlicher Immunglobulinklassen,bzw.Immunglobulinuntergruppen von Bedeutung sein (66,155).
Der geringe Abfall der DRA-Titer bei den Nicht-Reaktoren bis zum 30-Minuten-Wert läuft den Hämatokrit-Werten parallel und ist als Verdünnungseffekt durch die Infusion erklärbar, somit also nicht als Ausdruck eines immunologischen Geschehens zu werten.

2.2.4. Untersuchungen am wachen Hund.

Sowohl der Eingriff der Intubation als auch einige anästhetisch wirksame Pharmaka haben über eine Katecholaminausschüttung in geringem Maße einen hemmenden Einfluß auf immunologische Reaktionen (183,194).Auch bei der DIAR am Patienten wurde wiederholt über einen positiven Schutzeffekt der Anästhesie berichtet,die Inzidenz dieser Reaktionen war unter Narkoseeinfluß deutlich niedriger als bei wachen Patienten (165).Um die Wirkung einer Dextran-Provokation am immunisierten Hund ohne Narkoseeinfluß beobachten zu können,wurden in einer Pilotstudie Untersuchungen an 8 Hunden im wachen Zustand durchgeführt.Der Versuchsablauf entsprach im Wesentlichen demjenigen der Kontrollgruppe.Ähnliche Versuche wurden zur gleichen Zeit von SCHWARZ durchgeführt (171,172).Unsere Untersuchungsergebnisse am wachen Hund ergaben aber keinen Anhalt für eine immunsuppressive Wirkung der Narkose, die beobachteten Veränderungen entsprachen im Wesentlichen

denjenigen der narkotisierten Tiere.Dieselben Ergebnisser erbrachten schon Untersuchungen von WALTON,in denen durch Barbituratnarkose keine Veränderungen immunologischer Reaktionen beobachtet wurden (194).Berücksichtigt man die kleine Anzahl der wachen Versuchstiere,so sind auch die Reaktionshäufigkeit und die prozentuale Verteilung innerhalb der Schweregradskala der Kontrollgruppe (I A/B/C) vergleichbar.Die Veränderungen der untersuchten Parameter erfolgten bei einer schweren DIAR parallel zu den Veränderungen bei Tieren in Narkose:Wir beobachteten bei einem Tier einen massiven Abfall des arteriellen Mitteldrucks,sowie einen Thrombo- und Leukozytensturz und eine deutliche Senkung der DRA Titer.Im Elektrokardiogramm waren hypoxie-typische Veränderungen zu sehen;ähnliche EKG-Befunde wurden von anderen Autoren bei Patienten mit DIAR beschrieben (190,196) und wurden im Sinne einer coronaren Ischämie,durch ein reversibles Intimaödem bedingt,interpretiert (190).

Folgerung:

Unsere Untersuchungsergebnisse nach Dextran-Challenge am immunisierten wachen Hund zeigen keine prinzipiellen Unterschiede im Vergleich zu den Befunden am narkotisierten Tier.

2.2.5. Erfolg der Hapten-Hemmung als Prophylaxe der DIAR am Hund.Vergleich der drei Versuchsgruppen.

Vergleicht man die Ergebnisse der zwei Hapten-Gruppen mit denen der Kontrollgruppe,so erweisen sich beide Applikationsformen (sowohl die Vorinjektion als auch die gleichzeitige

Gabe des Haptens) zur Prophylaxe der DIAR am immunisierten Hund geeignet.

In beiden Gruppen ließ sich durch Hapten-Applikation sowohl eine Reduktion der Gesamthäufigkeit auf ca.16% (Kontrollgruppe 59%) als auch eine Linksverschiebung innerhalb der Schweregradskala erreichen (vgl.Tab.25,S.66).Die Vorinjektion des Haptens selbst (Gruppe II) bewirkte dabei keine Veränderung der hämodynamischen,hämatologischen und immunologischen Parameter.Hapten allein ist also eine Substanz,die selbst keine anaphylaktische Reaktion auslösen kann.Wenn man die sieben trotz Hapten-Applikation auf 1ml Dextran 60 reagierenden Hunde mit den Hunden der Kontrollgruppe vergleicht,so ergibt sich für die 4 Tiere mit schwacher Reaktion (II_B: n=3; III_B: n=1) für alle gemessenen Parameter ein prinzipiell gleiches Verhalten wie bei den Tieren der Gruppe I_B.Das Hapten hat hier also auf den zeitlichen Reaktionsablauf offensichtlich keinen Einfluß (vgl.II/III_A).Im Gegensatz dazu beobachteten wir bei einem der 3 Tiere mit schwerer DIAR (II_A: n=1;III_A: n=2) einen deutlich verzögerten Eintritt der Reaktion,hier scheint das Hapten also die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflußt zu haben.

2.2.6. Berechnung der Hapten-Dosierung für zwei verschiedene Applikationsformen.

a) Vorinjektion von Hapten-Dextran.

Die Hapten-Dosis,bei der für den Patienten eine vollständige Neutralisation der Dextran-reaktiven Antikörper durch die Hapten-Hemmung erwartet werden kann,wurde approximativ durch folgende Überlegungen ermittelt:

Plasma-Volumen bei einem gesunden Erwachsenen,
ca. 40 Jahre alt,ca. 70 kg KG: 4,5ml/kgKG (44)
d.h.: ca. 3 l gesamt.

Gesamt-Protein: 75g/l Plasma
d.h.: 225g in 3 l

IgG: 12,5g/l Plasma
d.h. : 37,5g in 3 l (74)

davon spezifisches IgG (=DRA): maximal 1mg/ml
(bei einem Titer von 1:512) (RICHTER,persönl.Mittlg.)
d.h.:max. 3g DRA in 31 Pl.

Bei einem gesunden Erwachsenen wäre demzufolge bei einem hohen DRA-Titer ungefähr mit einer Gesamtmenge von 3g DRA zu rechnen,die durch Hapten blockiert werden müßten.
Bei einem Molekulargewicht von ca. 150 000 für IgG und ca. 1 000 für Hapten-Dextran beträgt das Grammäquivalent 1:150. Berücksichtigt man die Tatsache,daß IgG zwei Antikörper-Bindungsstellen besitzt,so beträgt das tatsächliche Äquivalent 1:75,d.h.: Um 75mg DRA-IgG gerade eben mit Hapten-Dextran zu sättigen,wäre 1mg Hapten-Dextran erforderlich. Zur Neutralisation der maximalen DRA-Menge von 3 000mg benötigt man also 40mg Hapten-Dextran.

In der von uns verabreichten 15%-igen Hapten-Lösung sind in 10ml 1500mg Hapten-Dextran enthalten.Würde man diese Menge einem Patienten injizieren,so könnte man bei einem fast 40-fachen Überschuß sicher sein,alle DRA mit Hapten zu sättigen.Die den Versuchstieren injizierte Hapten-Dosis

von 5ml Lösung (750mg Hapten-Dextran) entspricht dieser Menge,da das Körpergewicht der Hunde zwar nur etwa 25% des Körpergewichts des Patienten,der den Berechnungen zugrundelag,betrug,die Hunde aber am Ende der Immunisierung durchschnittlich höhere Titer als die Mehrzahl der Patienten aufwiesen.

b) gleichzeitige Applikation von Hapten-Dextran und Dextran 60.

Die Hapten-Dosierung bei gleichzeitiger Gabe von Hapten-Dextran und Dextran 60 kann nicht in demselben Überschuß erfolgen wie bei der Hapten-Vorinjektion,da sich hier ein zusätzliches Problem stellt:Dextrane mit einem Molekülgewicht von $<$ 50 000 passieren die Nierenschwelle und werden deshalb rasch über den Urin ausgeschieden (193,202).Die Halbwertszeit und damit die Verweildauer im Kreislauf nimmt also mit sinkendem mittleren Molekülgewicht sehr schnell ab,sie beträgt z.B. für Dextran 60 acht Stunden,dagegen für Dextran 40 nur noch 90 Minuten (202).

Da bei einem Hapten-Dextran/Dextran 60-Gemisch das mittlere Molekülgewicht der Polymer-Lösung bei steigender Hapten-Beimengung in einen Bereich absinken würde,der die Volumeneigenschaft von Dextran 60 beeinträchtigt,wird der "zulässigen" Hapten-Dosis dadurch eine Grenze gesetzt:

1) einmal darf die Wirkung des Dextrans als Volumenersatz durch die Beigabe von niedermolekularem Hapten-Dextran nicht verringert werden,
2) zum andern muß die Hapten-Menge doch groß genug sein,um eine möglichst vollständige Neutrali-

sation der DRA zu gewährleisten.

RICHTER hat am passiv sensibilisierten Meerschweinchen gezeigt,daß ein molares Verhältnis von 7,5 : 1 (nichtanaphylaktogenes Hapten : anaphylaktogenes Dextran 70) ausreicht um die anaphylaktischen Symptome bei allen Tieren vollständig zu unterbinden (150).Legt man dieses molare Verhältnis unserer Berechnung zugrunde,so ergibt sich bei einem Grammäquivalent von 60 : 1 (Dextran 60 000 : Dextran 1000) bei einer

15%-igen Hapten-Lösung

und einer

6%-igen Dextran 60-Lösung

folgender Ansatz:

> 1g Hapten und 60g Dextran 60 entsprächen einem molaren Verhältnis von 1:1,für das erforderliche Verhältnis von 7,5:1 werden demnach 7,5g Hapten und 1g Dextran 60 benötigt. Berücksichtigt man nun noch die Tatsache,daß DRA-IgG 2 Antigen-Bindungsstellen besitzt, so heißt das,daß 3,75g Hapten-Dextran für die Blockierung von 30g Dextran 60 notwendig sind, um ein molares Verhältnis von 7,5:1 zu erhalten (sowohl für den Hund als auch den Patienten). Das entspräche 25ml unserer 15%-igen Lösung.

Um der Dextran-Lösung aus den bereits erwähnten Gründen sowenig Hapten-Dextran wie möglich hinzuzufügen,wurde bei den

Tieren eine Dosis von 20ml Hapten (15%) auf 500ml Dextran 60 festgesetzt,in der Überzeugung,dennoch eine signifikante Reduzierung der anaphylaktischen Symptome zu erhalten.Durch Erhöhung der Hapten-Dosis sollte demnach sowohl bei Vorinjektion als auch bei gleichzeitiger Applikation eine weitere, vielleicht vollständige Unterdrückung der DIAR möglich sein.

Zusammenfassung:

Es sollte untersucht werden,ob sich die Dextran-Unverträglichkeit beim Hund immunologisch und hämodynamisch mit der DIAR des Patienten vergleichen läßt.
Die Rolle Dextran-reaktiver Antikörper (DRA) bei der Auslösung schwerer Dextran-induzierter anaphylaktoider Reaktionen (DIAR) beim Menschen wurde in früheren Untersuchungen nachgewiesen. Nachdem die Dextran-Anaphylaxie am Meerschweinchen durch Haptenhemmung verhindert werden konnte,sollte geprüft werden,ob die Hapten-Hemmung auch beim Hund als DIAR-Prophylaxe wirksam ist.

Um die Bildung von DRA zu induzieren,wurden 70 Bastardhunde über einen Zeitraum von 4 Wochen 3mal mit 0,1mg/kgKG Edestin-Dextran + 1ml CFA aktiv immunisiert.1-2 Wochen nach der letzten Immunisierung wurden die Tiere mit Pentobarbital narkotisiert und künstlich beatmet.Die Hunde wurden randomisiert 3 Gruppen zugeteilt: Die Tiere aus Gruppe I (Kontrollen) wurden mit 1ml Dextran 60 i.v. provoziert.Die Hunde der Gruppe II erhielten 5ml Hapten-Dextran (Dx 1,15%, M_W1000) als Vorinjektion vor 1ml Dextran 60,während bei Gruppe III H-Dx gleichzeitig mit einer Infusion von 7ml/kgKG Dx 60 appliziert wurde.Vor und nach der Applikation von Dx 60,bzw. H-Dx wurden bei allen Tieren hämodynamische Parameter registriert,außerdem wurden Hämoglobin,Hämatokrit,Thrombozyten,Leukozyten sowie die Titerstufen der DRA bestimmt.
Wie die folgende Tabelle zeigt,konnte mit beiden Applikationsformen des Haptens,sowohl der Vorinjektion als auch der gleichzeitigen Anwendung,eine signifikante Reduktion der DIAR-Gesamt-

Häufigkeit sowie eine Linksverschiebung in der Schweregradskala erreicht werden. Damit erwies sich die Hapten-Hemmung der DIAR am immunisierten Hund als erfolgreich.

Tabelle Prozentuale Verteilung der DIAR-Häufigkeit am immunisierten Hund nach Schweregraden. Vergleich der 3 Versuchsgruppen.

	n	Schweregrade					Reaktionen
		0	+	++	+++	++++	(gesamt)
Dextran 60	27	41%	18%	4%	11%	26%	59%
Hapten-Voriniektion	25	84%	12%	0%	0%	4%	16%
Hapten eingebaut	18	83%	6%	0%	11%	0%	17%
Hapten (gesamt)	43	84%	9%	0%	5%	2%	16%

Ausblick:

Nach Voruntersuchungen an freiwilligen Probanden, die keine Nebenwirkungen des Hapten-Dextrans erbrachten, wird nun das Prinzip der Hapten-Hemmung seit 1 Jahr klinisch erprobt, um die prophylaktische Wirksamkeit bei der Dextran-Unverträglichkeitsreaktion auch für den Menschen zu prüfen.
Aufgrund der tierexperimentellen und klinischen Ergebnisse ist Hapten-Dextran zur Prophylaxe der DIAR bei Patienten kürzlich vom Bundesgesundheitsamt zugelassen worden.

F. Literaturverzeichnis

1. AHNEFELD,F.W.
Plasmaexpander in der Therapie: Nutzen und Problematik.
Allergologie 3,43 (1980)

2. AHNEFELD,F.W.,FISCHER,F.,FREY,F.,KILIAN,J.,SCHÖNING,B.
Der Infusionszwischenfall nach künstlichen Plasma-substituten im Meldekollektiv der Arzneimittelkom-mission.
Medizinstatistische Problematik,Prophylaxe und So-forttherapie.
Anaesthesist 28,207 (1979)

3. ALLEN,P.Z.,KABAT,E.A.
Persistance of circulating antibodies in human sub-jects immunized with dextran,levan and blood group substances.
J.Immunol. 80,495 (1858)

4. ALTMAN,Ph.L.
Handbook of circulation.
W.B.Saunders Co.,London (1959) p.181

5. ARROYAVE,C.M., BHAT,N.K.
Activation of the alternative pathway of the com-plement system by radiographic contrast media.
J.Immunol.117,1866 (1976)

6. ASSEM,E.S.K.,VICKERS,M.R.
Serum IgE and other in-vitro-tests in drug allergy.
Clin.Allergy 2,325 (1972)

7. BADDILEY,J.
Teichoic acids and the molecular structure of bac-terial cell walls.
Proc.Roy.Soc. Belg. 70,331 (1968)

8. BAILEY,G.,STRUB,R.L.,KLEIN,R.C.,SALVAGGIO,J.
Dextran induced anaphylaxis.
JAMA 200,889 (1967)

9. BAUER,A.,ÖSTLING,G.
Dextran-induced anaphylactoid reactions in connection with surgery.
Acta Anaesth.Scand. Suppl.37,182 (1970)

10. BAXTER,J.H.,ADAMIK,R.
Temperature dependence of histamine release from rat mast cells.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 146,71 (1974)

11. BAXTER,J.H.
Role of Ca^{++} in mast cell activation,desensitisation, and histamine release by dextran.
J.Immunol. 111,1470 (1973)

12. BEATON,N.C.,STEINHOFF,K.P.
Untersuchungen zur Charakterisierung von klinischen Dextranen.
Krankenhausarzt 2,80 (1974)

13. BECKER,E.L.
The relation of complement to other systems.
Proc.R.Soc.Lond.Ser.B. 173,383 (1969)

14. BECKER,E.L.,AUSTEN,K.F.
Anaphylaxis.
in: Textbook of Immunopathology.
(eds.:P.A.Miescher,H.J.Müller-Eberhard)
2nd ed.,Grune & Stratton,New York (1976),p.117

15. BENEVISTE,J.,HENSON,P.M.,COCHRANE,C.G.
Leucocyte-dependent histamine release from rabbit platelets.
J.Exp.Med.136,1356 (1972)

16. BERG,T.,JOHANSSON,S.G.O.
Allergy diagnosis with the radio-allergo-sorbent test.
J.Allergy Clin.Immunol. 54,209 (1974)

17. BERGENTZ,S.E.
The effect of dextran on coagulation and hemostasis.
Proc.Intenat.Symp.Macromol.Plasma Substitutes.
Strasbourg,Dec.1975.
Anesthésie,Analgésie,Réanimation 4,5 (1976)

18. BOHMANSSON,G.
Clinical experiences with dextran as a plasma substitute.
Acta Chir.Scand.94,149 (1946)

19. BOKISCH,V.A.,MÜLLER-EBERHARD,H.J.,COCHRANE,C.G.
Isolation of a fragment (C3a) of the third component of human complement containing anaphylatoxin and chemotactic activity and description of an anaphylatoxin-inactivator of human serum.
J.Exp.Med. 129,1109 (1969)

20. BOKISCH,V.A.,MÜLLER-EBRHARD,H.J.
Anaphylatoxin-inactivator of human plasma: Its isolation and characterization as a carboxypeptidase.
J.Clin.Invest. 49,2427 (1970)

21. BRISMAN,R.,PARKS,L.C.,HALLER,J.A.
Anaphylactoid reactions associated with the clinical use of dextran-70.
JAMA 204,824 (1968)

22. BOWMAN,H.W.
Clinical evaluation of dextran as a plasma volume expander.
JAMA 153,24 (1953)

23. CANO,P.O.,CHOW,M.,JERRY,L.M.,SLADOWSKI,J.R.
Circulating immune complexes in patients with atopic allergy.
Clin.Allergy 7,167 (1977)

24. CARLSSON,C.,GUSTAVSSON,L.,NILSSON,E.,NORDSTRØM,L.O.
Anafylaktoid reaktion a dextran.
Läkartidningen 69,3690 (1972)

25. CHIEN,S.,KRAKOFF,L.
Hemodynamics of dogs in histamine shock,with special reference to splanchnic blood volume and flow.
Circul.Res. 12,29 (1963)

26. CISAR,J.,KABAT,E.A.,DORNER,M.,LIAO,J.
Binding properties of immunoglobulin combining sites specific for terminal or non-terminal antigenic determinants in dextran.
J.Exp.Med. 142,435 (1975)

27. COCHRANE,Ch.G.,DIXON,F.J.
Antigen-antibody complex induced disease.
in: Textbook of Immunopathology.Vol.I.
(eds.: P.E.Miescher,H.J.Müller-Eberhard)
2nd ed.,Grune & Stratton,New York (1976),p.137

28. COLEY,J.,DUCKWORTH,M.,BADDILEY,J.
Extraction and purification of lipoteichoic acids from gram-positive bacteria.
Carbohydrate Res. 40,41 (1975)

29. COULSON,E.J.,STEVENS,H.
Some observations on the immunochemistry of dextrans.
J.Immunol. 86,241 (1961)

30. CRAIG,W.M.,GRAY,H.K.,LUNDY,J.S.
Present status of plasma volume expanders in the treatment of shock.
Archs.Surg. 63,742 (1951)

31. DAVIS,B.D.,DULBECCO,R.,EISEN,H.,GINSBERG,H.S., WOOD,W.B.
Principles of microbiology and immunology.
Harper & Row,New York (1968),p.376

32. DAVIS,B.D.,DULBECCO,R.,EISEN,H.,GINSBERG,H.S., WOOD,W.B.jr.
Cellwall.
in: Microbiology.(ed.GINSBERG,H.S.)
Harper International Edition,New York (1973),p.107

33. De WECK,A.L.
Immunologische Mechanismen der allergischen Reaktionen auf Antibiotika.
Münch.Med.Wschr. 115,1650 (1973)

34. DE WECK,A.L.,GIRARD,J.P.
Specific inhibition of allergic reactions to penicillin in man by a monovalent hapten.
II.Clinical studies.
Intern.Archs.Allergy 42,798 (1972)

35. [illegible]
Dextran induced anaphylactoid reactions.
Report of two cases.
J.Oslo City Hospitals 24,75 (1974)

36. EDBERG,S.C.,MELNICK,G.
The allergenic cross-reactivity of antisera against different molecular weights of a homopolymer,dextran.
Experientia 30,298 (1974)

37. ERASMUS,J.F.P.,BIRCH,D.A.
Allergic reactions to dextran,case history report.
S.A.Med.J. 26,945 (1952)

38. FELTON,L.D.,KAUFFMANN,G.,PRESCOTT,B.,OTTINGER,B.
Studies on the mechanism of the immunological paralysis induced in mice by pneumococcal polysaccharides.
J.Immunol. 74,17 (1955)

39. FOREMAN,J.C.,GARLAND,L.G.
Desensitization in the process of histamine secretion induced by antigen and dextran.
J.Physiol. 239,381 (1974)

40. FOTHERGILL,R.
Reactions to dextran.
Brit.Med.J.[illegible] (197[illegible])

41. FREY,R.,FISCHER,F.,HUTSCHENREUTER,K.
Vorsichtsmaßregeln bei der Anwendung kolloidaler Volumenersatzmittel.
Dt.Ärzteblatt [illegible] (197[illegible])

42. FURHOFF,A.K.
Anaphylactoid reaction to dextran.
A report of 133 cases.
Acta Anaesth.Scand. 21,161 (1977)

43. GELL,P.G.H.,COOMBS,R.R.
Clinical aspects of immunology.(2nd edition)
Blackwell,Oxford (1971)

44. GEIGY,J.R.,AG (Hrsg.)
Wissenschaftliche Tabellen.
(Red.: K.Diem,C.Lentner)
Documenta Geigy,Basel (1968),575

45. GETZEN,J.H.,SPEIGGLE,W.
Anaphylactoid reaction to dextran.
Archs.Int.Med. 112,168 (1963)

46. GIRARD,J.P.,CALTIN,S.,CUEVAS,M.
Immunological mechanisms and diagnostic tests in
allergic drug reactions.
Annals Clin.Res. 8,74 (1976)

47. GLYNN,L.E.,HOLBOROW,E.J.,JOHNSSON,G.D.
The relationship of polymer size and sulphation to
the haptenic specifity of dextrans.
J.Path.Bact. 68,205 (1954)

48. GODENSCHWEGER,J.,ARLT,E.,ARLT,B.
Unverträglichkeitsreaktionen nach Infusion kolloidaler Volumenersatzmittel während der Narkose.
Fortschr.Med. 96,227 (1978)

49. GONZALEZ,D.,GUARDIJAN,E.S.,THOMAS,L.M.
Dextran 40 : Anaphylaxis and stroke.A case report.
Neurology 20,1139 (1970)

50. GOODMAN,J.W.,KABAT,E.A.
Immunochemical studies on cross-reactions of anti-pneumococcal sera.
1. Cross-reactions of types II and XX antipneumo-coccal sera with dextrans and of type II antipneumo-coccal serum with glycogen and Friedländer type B polysaccharide.
J.Immunol.84,333 (1960)

51. GOODMAN,J.W.,KABAT,E.A.
Immunochemical studies on cross-reactions of anti-pneumococcal sera.
2. Cross-reactions of types IX and XII antipneumo-coccal sera with dextran.
J.Immunol. 84,342 (1960)

52. GOODMAN,J.W.,KABAT,E.A.
Immunochemical studies on cross-reactions of anti-pneumococcal sera.
3. The effect of variation in molecular weight on the cross-reactivity of dextran with type II anti-pneumococcal serum.
J.Immunol.84,347 (1960)

53. GOODMAN,J.W.,KABAT,E.A.
Immunochemical studies on cross-reactions of anti-pneumococcal sera.
4. Cross-reactions of horse type XXII antipneumo-coccal serum with dextran.
J.Immunol.93,213 (1964)

54. GOTTSTEIN,U.,SEDLMEYER,J.,HEUß,A.
Die Behandlung der akuten cerebralen Mangeldurch-blutung mit niedermolekularem Dextran.
Dt.Med.Wschr. 7,223 (1976)

55. GRABAR,P.
Réactions de divers sérums normaux avec des substances macromoléculaires naturelles ou synthétiques.
Annls.Inst.Pasteur Paris 88,11 (1955)

56. GRÖNWALL,A.,INGELMAN,B.
Dextran as a substitute for plasma.
Nature 155,45 (1945)

57. GRÖNWALL,A.
Antigenicity of Swedish clinical dextran.
Acta Soc.Med.Upsal.64,244 (1959)

58. GRUBER,U.F.
Blutersatz.
Springer,Berlin-Heidelberg-New York (1968)

59. HÄMMERLING,U.
Immunchemische Untersuchungen zur Überführung von bakteriellen Polysaccharid-Haptenen in Vollantigene.
Dissertation,Freiburg (1965)

60. HÄMMERLING,U.,WESTPHAL,O.
Synthesis and use of O-stearoyl polysaccharides in passive hemagglutination.
Europ.J.Biochem. 1,46 (1967)

61. HÄNSCH,G.,ROTHER,U.,BASEDOW,A.M.,EBERT,K.H.
Activation of Complement by Dextran.
IRCS 7,199 (1979)

62. HAWIGER,J.,MARNEY,S.R.,COLLEY,D.G.,DES PREZ,R.M.
Complement-dependent platelet injury by staphylococcal protein A.
J.Exp.Med.136,68 (1972)

63. HEDIN,H.,RICHTER,W.
Potential pathomechanisms of dextran-induced anaphylactoid reactions in man.
in: Dextran - 30 years. (ed.:D.H.Lewis)
Acta Univ.Upsal./Symp.Univ.Upsal.3 (1978)

64. HEDIN,H.,GRANATH,K.,FRIBERG,J.
Detection of macromolecular trace contaminants in technical grade and native B 512 dextran by rat anaphylatoxin-,limulus lysate-,and rabbit pyrogen assays.
in: HEDIN,H.:Dextran-induced anaphylactoid reactions in man.Immunological in vitro and in vivo studies.
Acta Univ.Upsal.432 (1977)

65. HEDIN,H.
Dextran-induced anaphylactoid reactions in man.
Immunological in vitro and in vivo studies.
Doctoral dissertation.
Acta Univ.Upsal. 432 (1977)

66. HEDIN,H.,SMEDEGARD,G.
Complement profiles in cynomolgus monkeys in connection with immune complex mediated anaphylaxis,and following injection of soluble and particulate polysaccharides.
in: HEDIN,H.:Dextran-induced anaphylactoid reactions in man.Immunological in vitro and in vivo studies.
Acta Univ.Upsal.432 (1977)

67. HEDIN,H.
Complement profiles in connection with dextran-induced anaphylactoid reactions in man.
in: HEDIN,H.:Dextran-induced anaphylactoid reactions in man.Immunological in vitro and in vivo studies.
Acta Univ. Upsal.432 (1977)

68. HEDIN,H.,RANDEN,L.
Serum carboxypeptidase B levels in normal individuals,in patients with dextran-induced anaphylactoid reaction,and in patients with atopic and inflammatory diseases.
in: HEDIN,H.
Dextran-induced anaphylacoid reactions in man. Immunological in vitro and in vivo studies.
Acta Univ. Upsal.432 (1977)

69. HEHRE,E.J.,SUGG,Y.
Serologically reactive polysaccharides produced through the action of bacterial enzymes.
J.Exp.Med. 75,339 (1942)

70. HEIDELBERGER,M.,JAHRMÄRKER,H.,BÖRKLUND,B.,ADAMS,J.
Cross-reactions of polyglucoses in antipneumococcal sera.
3. Reactions in horse sera.
J.Immunol.78,419 (1957)

71. HEIDELBERGER,M.
Lectures in immunochemistry.
Academic Press,New York (1956)

72. HELLSING,K.,ENSTRÖM,H.,RICHTER,W.
Immunochemical quantitation of dextran (α-1,6-glucan) traces in sucrose solutions by a rapid and automated nephelometric procedure.
Analyt.Biochem.76,149 (1976)

73. HENSON,P.M.
Release of vasoactive amines from rabbit platelets induced by sensitized mononuclear leucocytes and antigens.
J.Exp.Med.131,287 (1970)

74. HITZIG,W.H.
Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin.
Springer,Berlin (1963),

75. HOENE,R.,SWINEFORD,O.jr.,QUELCH,S.
Desensibilisierung mit Haptenen.Rolle der Molekulargröße bei der spezifischen Präzipitation,Anaphylaxie und Desensibilisierung mit Dextran-Fraktionen.
J.Allergy 32,381 (1961)

76. HOWARD,J.G.
Influence of molecular structure on the tolerogenicity of bacterial dextrans.
1. The α-1,6-linked epitope of dextran B512.
Immunology 29,585 (1975)

77. HUMPHREY,J.H.,WHITE,R.G.
Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
Hrsg.:E.Macher.
Thieme,Stuttgart (1972)

78. INGELMAN,B.
Dextran and its use as a plasma substitute.
Acta Chem Scand.1,731 (1947)

79. JACKER,H.-J.
Blut,Blutbestandteile,Plasmaexpander.
Pharm.Prax.Suppl.7,160 (1969)

80. JACOBSSON,L.,ZSIGA,J.
Dextran-reacting antibodies in human serum.
Acta Soc.Med.Upsal.63,165 (1958)

81. JACOBSSON,L.,WIKSTRÖM,R.
The detection of dextran-reacting antibodies in human serum.
Acta Soc.Med.Upsal.63,180 (1958)

82. JAQUES,L.B.,WATER,E.T.
The identity and origin of the anticoagulant of anaphylactic shock in dogs.
J.Physiol.99,454 (1941)

83. JAWETZ,E.,MELNICK,L.,ADELBERG,E.A.
Medizinische Mikrobiologie.
Springer,Heidelberg (1977),S.19

84. JOHNSON,U.,LAURELL,A.B.
Activation of complement in anaphylactoid reactions in connection with infusion of dextran.
Scand.J.Immunol.3,673 (1974)

85. KABAT,E.A.,TURINO,G.M.,TARROW,A.B.,MAURER,P.H.
Studies on the immunochemical basis of allergic reactions to dextran in man.
J.Clin.Invest.36,1160 (1957)

86. KABAT,E.A.,BEZER,A.E.
The effect of variation in molecular weight on the antigenicity of dextran in man.
Archs.Biochem.Biophys.78,306 (1958)

87. KABAT,E.A.,BERG,D.
Production of precipitins and cutaneous sensitivity in man by injection of small amounts of dextran.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 55,471 (1952)

88. KABAT,E.A.,BERG,D.
Dextran - an antigen in man.
J.Immunol.70,514 (1953)

89. KABAT,E.A.
The upper limit for the size of the human antidextran combining site.
J.Immunol.84,82 (1960)

90. KABAT,E.A.
Immunchemische Untersuchungen an Dextranen und Blutgruppensubstanzen.
Behring-Werk-Mitteilungen 34,39 (1958)

91. KNOX,K.W.,WICKEN,A.J.
Reaction of dextrans with antisera to teichoic acids.
Archs.Oral Biol.17,1491 (1972)

92. KOEPSELL,H.J.,TSUCHIJA,H.M.
Enzymatic synthesis of dextran.
J.Bacteriol.63,293 (1952)

93. KOHEN,M.,MATTIKOW,M.
A study of three untoward reactions to dextran.
J.Allergy 40,309 (1970)

94. KOPELOFF,N.,KOPELOFF,L.M.
Blood platelets in anaphylxis.
J.Immunol.40,471 (1941)

95. LANDAUER,B.,KRÄMER,G.
Neue Aspekte der Schocktherapie mit Volumenersatzmitteln.
Münch.Med.Wschr. 118,553 (1976)

96. LANDSTEINER,K.
The specifity of serological reactions.
2nd ed.,Grune & Stratton,New York (1962),p.83

97. LANGREHR,D.,SINGBARTL,G.,NEUHAUS,R.
Nebenwirkungen nach Dextran- und Gelatinepräparaten in der Infusionstherapie.Klinische Erfahrungen bei der anaphylaktoiden Sofortreaktion.
Klin.Anästh.Intensivther.9,73 (1975)

98. LEON,M.A.
The reaction between dextrans and the properdin-complement system.
J.Immunol.85,190 (1960)

99. LJUNGSTRÖM,K.G.
Dextran 70 as a prophylactic against fatal postoperative pulmonary embolism.
Läkartidningen 72,2284 (1975)

100. LORENZ,W.,DOENICKE,A.,MEßMER,K.,REIMANN,H.J.,THERMANN,M.,LAHN,W.,BEHR,J.,SCHMAL,A.,DORMANN,P.,REGENFUSS,P.,HAMELMANN,H.
Histamine release in human subjects by modified gelatin (Haemaccel^{R}) and dextran: an explanation for anaphylactoid reactions observed under clinical conditions ?
Brit.J.Anaesth. 48,151 (1976)

101. LORENZ,W.,SEIDEL,W.,DOENICKE,A.
Elevated plasma histamine concentrations in surgery: causes and clinical significance.
Klin.Wschr. 52,419 (1974)

102. LORENZ,W.,DOENICKE,A.,DITTMANN,I.,HUG,P.,SCHWARZ,B.
Anaphylactoid reactions following administration of plasma substitutes in man - prevention of this side effect of haemaccel by premedication with H-1-Receptor and H-2-Receptor antagonists.
Anaesthesist 26,644 (1977)

103. LORENZ,W.,DOENICKE,A.
Anaphylactoid reactions and histamine release by intravenous drugs used in surgery and anaesthesia.
in: WATKINS,J.,MILFORD WARD,A.
Adverse response to intravenous drugs.
Grune & Stratton,New York (1978),p.83

104. LORENZ,W.
Histamine release in man.
Agents Actions 5,402 (1975)

105. LUNDSGAARD-HANSEN,P.
Nebenwirkungen von Plasmaersatzmitteln.
Praxis 58,103 (1969)

106. MADDI,V.J.
Dextran anaphylaxis.
Angiology 20,243 (1969)

107. MALTBY,J.R.
Anaphylactoid reaction to dextran.
Brit.J.Anaesth. 40,552 (1968)

108. MARNEY,S.R.jr.
Rabbit platelet injury by soluble antigen and antibody.
II. Platelet aggregation in heparinized plasma and citrated plasma,relationship to ADP and inhibition by cobra factor.
J.Immunol.106,82 (1971)

109. MAURER,P.H.
Immunologische Untersuchungen mit Plasmaersatzmitteln.
Klin.Wschr.38,417 (1960)

110. MAURER,P.H.
Dextran,an antigen in man.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.83,879 (1953)

111. MEISSNER,F.
Allergische Reaktionen nach Dextraninfusion.
Allergie Asthmaforschg.Suppl.4,33 (1961)

112. MEßMER,K.,LORENZ,W.,HAENDLE,H.,KLOEVEKORN,W.P., HUTZEL,M.
Acute hypotension and histamine liberation following rapid infusion of plasma substitutes in dogs.
Europ.Surg.Res.1,188 (1969)

113. MEßMER,K.,LORENZ,W.,SUNDER-PLASSMANN,L.,KLOEVEKORN, W.P.,HUTZEL,M
Histamine release as cause of acute hypotension following rapid colloid infusion.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharm.267,433 (1970)

114. MEßMER,K.
Special aspects of liver circulation.
in: Möglichkeiten des Leberersatzes.
Hrsg.: O.Boeckl,E.Hell,H.Steiner.
Urban & Schwarzenberg , München (1970),S.11

115. MEßMER,K.,GRUBER,U.F.
Use of colloids in the therapy of shock.
in: T.L.MALININ (ed.)
Acute fluid replacement in the therapy of shock.
Grune & Stratton,New York (1974),p.195

116. MEßMER,K.
Pathophysiologische Aspekte klinischer Schockzustände.
Ther.Ber.46,109 (1974)

117. MEßMER,K.
Pathophysiologische Aspekte und Probleme des Schocks.
Triangel 13,85 (1974)

118. MEßMER,K.,SUNDER-PLASSMANN,L.
Schock.Allgemeine Pathophysiologie.
in: Pathophysiologische Grundlagen der Chirurgie.
Hrsg.: Th.Lindenschmidt.
Thieme,Stuttgart (1975),S.159

119. MEßMER,K.
Les effets de l'hémodilution sur les propriétés rhéologiques du sang et sur l'oxygenation des tissus.
Anaesth.Analg.Réan.33,509 (1976)

120. MEßMER,K.
Zusammenfassung des Round-Table-Gesprächs über präoperative Hämodilution.
Anaesthesist 25,185 (1976)

121. MEßMER,K.,RING,J.,HEDIN.H.,RICHTER,W.,SEEMANN,C.
Nebenwirkungen bei der Anwendung kolloidaler Infusionslösungen.
Zbl.Chir.103,978 (1978)

122. MEßMER,K.,SEEMANN,C.,HEDIN.H.,RICHTER,W.
Anaphylaktoide Reaktionen nach Dextran: Prophylaxe durch Hapten-Hemmung.
Allergologie 3,43 (1980)

123. MICHELSON,E.
Anaphylactoid reaction to dextran.
New Engl.J.Med.278,552 (1968)

124. MISGELD,V.,MENDE,CH.
Dextran-Unverträglichkeit.
Med.Klin.69,1452 (1974)

125. MIYAJI,H.,MISAKI,A.,TORII,M.
The structure of a dextran produced by leuconostoc mesenteroides B 512 : The linkages and length of the branches.
Carbohydrate Res.31,277 (1973)

126. MOVAT,H.Z.,MUSTARD,J.F.,TAICHMAN,N.S.,URINHARA,T.
Platelet aggregation and release of ADP,serotonin and histamin associated with phagocytosis of antigen-antibody complexes.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.120,232 (1965)

127. MORR-STRATHMANN,U.,LAWIN,P.
Unverträglichkeitserscheinungen nach Gabe von Dextranlösungen.
Z.prakt.Anaesth.10,99 (1975)

128. MÜLLER-EBERHARD,H.J.
Chemistry and reaction mechanisms of complement.
Adv.Immunol.8,2 (1968)

129. MÜLLER-EBERHARD,H.J.
The serum complement system.
in: Textbook of immunopathology.
(eds.: P.A.Miescher,H.J.Müller-Eberhard)
2nd ed.,Grune & Stratton,New York (1976),45

130. MURPHEY,P.T.,WHISTLER,L.
Dextrans.
in: Industrial gums.Polysaccharides and their derivatives. (eds.:WHISTLER,R.L.,MILLER,J.N.B.)
2nd ed.,Grune & Stratton,New York (1973),p.513

131. NEILL,J.M.,HEHRE,E.J.,SUGG,J.,JAFFE,E.
Reactions between solutions of reagent sucrose and type II pneumococcus serum.
J.Exp.Med.70,427 (1939)

132. NEILL,J.M.,SUGG,J.,JAFFE,E.,HEHRE,E.J.
Influence of sucrose upon production of serologically reactive material by certain streptococci.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.47,553 (1941)

133. NORDSTRÖM,L.,FLETCHER,R.,PAVEK,K.
Shock of anaphylactoid type induced by protamine: a continuous cardiorespiratory record.
Acta Anaesth.Scand.22,195 (1978)

134. OUCHTERLONY,Ö.
Diffusion in gel,methods for immunological analysis.
Progr.Allergy 6,30 (1962)

135. OUCHTERLONY,Ö.,NILSSON,L.A.
Immunodiffusion and immunoelectrophoresis.
in: Handbook of experimental immunology.
(ed.:D.M.Weir) ,13
3rd ed.,Blackwell,Oxford (1978),p.19.1

136. OVARY,Z.
Cutaneous anaphylaxis in the albino rat.
Int.Arch.Allergy 3,293 (1952)

137. OVARY,Z.,KARUSH,F.
Studies on the immunological mechanism of anaphylaxis.
I. Antibody-hapten interaction studied by passive cutaneous anaphylaxis in the guinea pig.
J.Immunol.84,409 (1960)

138. PAVEK,K.
Hämodynamik im anaphylaktischen Schock bei Cynomolgus-Affen.
Acta Anaesth.Scand.21,293 (1977)

139. PICHLMAYR,I.
Hämodilution.Grundlagen und Praxis.
Anaesth.Prax.12,41 (1976)

140. PILLEMER,L.,SCHOENBERG,M.D.,BLUM,L.,WURZ,L.
Properdin system and immunity.
II. Interaction of the properdin system with polysaccharides.
Science 122,545 (1955)

141. PREISS,D.U.,LINDENMAIER,H.L.,KUNER,E.H.
Successful treatment of a case of severe systemic anaphylactoid reaction to dextran 60 (Macrodex^R) with histamine H_1 and H_2 (cimetidine) receptor antagonists.
in: Excerpta Medica,Amsterdam-Oxford
Intern.Congress series (1978),p.452
V.Europ.Congr.Anaesth.

142. RAAB,W.
Pathomechanismen der unerwünschten Reaktion bei Gabe von Plasmaersatzmitteln.
Klin.Anästh.Intensivther.9,36 (1975)

143. REAM,V.J.,DEYKIN,D.,GUREWICH,V.,WESSLER,S.
The aggregation of human platelets by bacterial endotoxin.
J.Lab.Clin.Med.66,245 (1965)

144. RICHTER,W.
Absence of immunogenic impurities in clinical dextran tested by passive cutaneous anaphylaxis.
Int.Archs.Allergy Appl.Immunol.39,469 (1970)

145. RICHTER,W.
A simple method for quantitation of haptens using "indirect" single radial immunodiffusion.
J.Immunol.107,948 (1971)

146. RICHTER,W.
Hapten inhibition of passive antidextran dextran anaphylaxis in guinea pigs.Role of molecular size in anaphylactogenicity and precipitability of dextran fractions.
Int.Arch.Allergy 41,826 (1971)

147. RICHTER,W.
Minimal molecular size of dextran required to elicit heterologous passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs.
Int.Archs.Allergy Appl.Immunol.43,252 (1972)

148. RICHTER,W.KAGEDAL,L.
Preparation of dextran-protein conjugates and studies of their immunogenicity.
Int.Archs.Allergy Appl.Immunol.42,887 (1972)

149. RICHTER,W.
Built-in hapten inhibition of anaphylaxis by the low molecular weight fractions of a B 512 dextran fraction of $\bar{M}_w$ 3400.
Int.Archs.Allergy Appl.Immunol.45,930 (1973)

150. RICHTER,W.
Immunological in vivo and in vitro studies of the dextran antidextran system.
Doctoral dissertation,Uppsala (1973)

151. RICHTER,W.
Immunologische Untersuchungen von Dextrannebenwirkungen.
Klin.Anästh.Intensivther. 9,48 (1975)

152. RICHTER,W.,GRANATH,K.,ÖSTLING,G.
Anaphylactoid reactions in connection with infusion of invert sugar solutions are due to macromolecular contaminants.
Int.Archs.Allergy Appl.Immunol.50,606 (1976)

153. RICHTER,W.,SEEMANN,C.,HEDIN,H.,RING,J.,MEßMER,K.
Dextranunverträglichkeit.Immunologische,tierexperimentelle und klinische Studien.
Med.Welt 31,365 (1980)

154. RICHTER,W.,HEDIN,H.,RING,J.
Immunologische Befunde bei der Infusion kolloidaler Lösungen.
Med.Welt 28,1717 (1977)

155. RICHTER,W.,HEDIN,H.,KRAFT,W.
persönl.Mitt. (1978)

156. RICHTER,W.,MEßMER,K.,HEDIN,H.,RING,J.
Anaphylactoid reactions to plasma substitutes.
Incidence and pathomechanisms.
Symp.Adverse reactions to intravenous agents.
Sheffield,July 6-7,1978

157. RICHTER,W.,MEßMER,K.,HEDIN.H.,RING,J.
Adverse reactions to plasma substitutes.
Incidence and pathomechanisms.
in: WATKINS,J.,MILFORD WARD,A.
Adverse response to intravenous drugs.
Grune & Stratton,New York (1978),p.42

158. RICHTER,W.,HEDIN,H.
Solutions and emulsions used for intravenous infusions.
in: W.M.ROSSUM
Handbuch für experimentelle Pharmakologie
Springer,Heidelberg (im Druck)

159. RING,J.,SEIFERT,J.,MEßMER,K.,BRENDEL,W.
Untersuchungen zur Frage der Nebenwirkungen bei Anwendung von Plasmaersatzmitteln.
Klin.Anästh.Intensivther.9,58 (1975)

160. RING,J.,MEßMER,K.
Anaphylaktoide Reaktionen nach Infusion kolloidaler Volumenersatzmittel.
Int.Prax.16,579 (1976)

161. RING,J.,HEDIN,.H.,RICHTER,W.,JESCH,F.,SEIFERT,J., MEßMER,K.
Plasma substitute incompatibility.
Europ.Surg.Res.8,259 (1976)

162. RING,J.,MEßMER,K.
Infusionstherapie mit kolloidalen Volumenersatzmitteln.
Anaesthesist 26,279 (1977)

163. RING,J.,MEßMER,K.
Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes.
The Lancet i,466 (1977)

164. RING,J.,HEDIN,H.,RICHTER,W.,JESCH,F.,MEßMER,K.
Immunological properties of a high molecular weight component from yeast cell autolysate in dogs and evaluation of its potential role in human dextran reactions.
Europ.Surg.Res.9,338 (1977)

165. RING,J.
Anaphylaktoide Reaktionen nach Infusion kolloidaler Volumenersatzmittel.
Anaesth.Intensivmed. 111
Springer,Berlin-Heidelberg-New York (1978)

166. RING,J.,ARROYAVE,C.M.,FRIZLER,M.J.,TAU,E.M.
In vitro histamine and serotonin release by radiographic contrast media (RCM).
Clin.Exp.Immunol.32,105(1978)

167. ROBBINS,J.,STETSON,C.A.
An effect of antigen-antibody interaction on blood coagulation.
J.Exp.Med.109,1 (1959)

168. ROUSSEL,R.
Anaphylactoid reaction to dextran.
Brit.J.Anaesth.40,552 (1968)

169. ROZMIAREK,H.,BOLTON,R.W.,CHORPENNING,F.W.
Environmental origin of natural antibodies to teichoic acids. Infection Immunitiy 5,505 (1977)

170. SCHÖNING,B.,KOCH,H.
Pathergiequote verschiedener Plasmasubstitute an Haut und Respirationstrakt orthopädischer Patienten.
Anaesthesist 24,507 (1975)

171. SCHWARZ,J.A.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirksamkeit der Hapten-Hemmung mittels monovalenten Dextrans (Dextran 1) am wachen Hund.
Allergologie 3,43 (1980)

172. SCHWARZ,J.A.
Verhinderung Antikörper-bedingter Dextran-Nebenwirkung durch Hapten-Hemmung,-eine experimentelle Pilotstudie am wachen Hund.
Allergologie 1,184 (1978)

173. SEEMANN,C.,HEDIN,H.,RICHTER,W.,RING,J.,STIPPIG,S., MEßMER,K.
Hapten-inhibition of dextran-induced anaphylactoid reaction (DIAR).
Europ.Surg.Res.10,295 (1978)

174. SEEMANN,C.,HEDIN,H.,RICHTER,W.,RING,J.,STIPPIG,S., MEßMER,K.
Hapten-Hemmung der Dextran-induzierten anaphylaktoiden Reaktion.
Allergologie 1,185 (1978)

175. SIRAGANIAN,R.P.,OSLER,A.G.
Histamine release from sensitized rabbit leucocytes and associated platelet involvement.
J.Allergy 43,167 (1969)

176. SIRAGANIAN,R.P.
Platelet requirement in the interaction of the complement and clotting systems.
Nature 239,208 (1972)

177. SKYTT,G.
Anafylaktoid reaktion efter dextran 40.
Ugeskrift for laeger 137,2441 (1975)

178. SPINK,W.W.,DAVIS,R.B.,POTTER,R.,CHARTRAND,S.
The initial stage of amine endotoxin shock as an expression of anaphylactic shock:Studies on complement titers and plasma histamine concentration.
J.Clin.Invest.43,696 (1964)

179. STREY,W.,SCHWARTZKOPFF,W.,WURM,W.,PEDERSEN,O.M.
Einfluß von makromolekularem Dextran (Macrodex 6%, Knoll AG) auf die Hämodynamik des menschlichen Blutkreislaufs bei kontrollierter Hypovolämie.
Anaesthesist 26,295 (1977)

180. STORSTEIN,O.,CUDKOWICZ,L.,ATTWOOD,H.D.
Effect of histamine on the pulmonary circulation in dogs.
Circul.Res. 7,360 (1959)

181. SUNDER-PLASSMANN,L.,MEßMER,K.
Die Dynamik der Mikrozirkulation im Schock: Hämorheologische und hämodynamische Veränderungen.
Z.Prakt.Anaesth.Wiederbel. 7,95 (1972)

182. SUNDER-PLASSMANN,L.,KLÖVEKORN,W.P.,MEßMER,K.
Hemodynamic and rheological changes induced by hemodilution with colloids.
in: Hemodilution.Theoretical basis and clinical application.
eds.:MEßMER,K.,SCHMID-SCHÖNBEIN,H.
Karger,Basel (1972), p.184

183. TAKKI,S.,TAMMISTO,T.,NIKKI,P.,JÄÄTTELA,A.
Effect of laryngoscopy and intubation on plasma catecholamine levels during intravenous induction of anaesthesia.
Brit.J.Anaesth.44,1323 (1972)

184. TAYLOR,F.B.,MÜLLER-EBERHARD,H.J.
Qualitative description of factors involved in the retraction and lysis of dilute blood clots and in the aggregation and retraction of platelets.
J.Clin.Invest.49,2068 (1971)

185. TERRY,R.,YUILE,C.L.
Metabolism of dextran:a plasma volume expander.
J.Lab.Clin.Med. 42,6 (1953)

186. THERMANN,M.,DOENICKE,A.,MEßMER,K.,HAMELMANN,H.,
REIMANN,H.J.,LORENZ,W.
Histaminfreisetzung beim Menschen durch Plasmasubstitute auf Gelatine- und Dextranbasis: Ursache der anaphylaktoiden Reaktionen in der Klinik ?
Langenbecks Arch.Klin.Chir.,Suppl.Chir.Forum ,435 (1975)

187. TORII,M.,SAKAKIBARA,K.,KABAT,E.A.
Immunochemical studies on dextran.
J.Immunol.110,951 (1973)

188. TURNER,F.P.
Dextran - an experimental plasma substitute.
Surg.Gynec.Obstet.88,661 (1949)

189. VANDAMME,J.P.
Severe and fatal reactions to rheomacrodex.
Acta Chir.Belg. 74,531 (1975)

190. VELTMANN,G.,MÜRTZ,R.
EKG-Veränderungen bei Dextran-Unverträglichkeit.
Dt.Med.Wschr. 101,1493 (1976)

191. VLAHO,M.,GROSS,R.
Plasma-Ersatzmittel und Plasma-Expander.
Dt.Ärztbl.45,2859 (1976)

192. WALDHAUSEN,E.
Allergische Reaktionen nach Dextran-Infusionen.
Anaesthesist 24,129 (1975)

193. WALLENIUS,G.
Renal clearance of dextran as a measure of glomerular permeability.
Acta Soc.Med.Upsal. 59,Suppl.4 (1954)

194. WALTON,B.
Anaesthesia,surgery and immunolgy.
Anaesthesia 33,322 (1978)

195. WEBSTER,A.W.
Two cases (one fatal) of severe reaction to Rheomacrodex.
S.A.Med.J.47,2421 (1973)

196. WEGMANN,A.,RENKER,H.
Das Elektrokardiogramm im anaphylaktischen Schock des Menschen.
Klin.Wschr.54,453 (1976)

197. WEISS,H.J.
The effect of clinical dextran on platelet aggregation,adhesion and ADP-release in man: in vivo and in vitro studies.
J.Lab.Clin.Med. 69,37 (1967)

198. WILKINSON,A.W.
Reactions to dextran.
Lancet i,956 (1953)

199. WINKELSTEIN,J.A.,TOMASZ,A.
Activation of the alternative pathway by pneumococcal cell walls.
J.Immunol.118,451 (1977)

200. WOLD,J.K.HEEN,T.
Polysaccharide contaminants in ultra pure grade sucrose with relation to anaphylactoid reactions in the clinical use of invert sugar solutions.
II. Studies on the chemical structure of two native dextrans.
Acta Pharm.Suec.15,51 (1978)

201. VERAGUT,U.,SIEGENTHALER,W.,GRUBER,U.F.
Schock.Allgemeine Pathophysiologie.
in: SIEGENTHALER,W. (Hrsg.)
Klinische Pathophysiologie.
Thieme,Stuttgart (1973),S.593

202. VINAZZER,H.
Die postoperative Thrombosebereitschaft.Enstehungsursachen und prophylaktische Möglichkeiten.
Schattauer,Stuttgart-New York (1973),S.52

203. ZIEGLER,H.K.
Sektionsbefund bei Dextran-Zwischenfall.
Med.Klin.73,1089 (1978)

204. ZIMMERMANN,TH.S.
The coagulation mechanism and the inflammatory response.
in: Textbook of Immunopathology.Vol.I
(eds.: P.E.Miescher,H.J.Müller-Eberhard)
2nd ed.,Grune & Stratton,New York (1976),p.95

205. ZOZAYA,J.
Immunological reactions between dextran polysaccharides and some bacterial antisera.
J.Exp.Med.55,353 (1932)

Herrn Prof.Dr.W.Brendel bin ich für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes am Institut für chirurgische Forschung zu großem Dank verpflichtet.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof.Dr.K.Meßmer, der den Verlauf der Versuche und ihre Auswertung mit stets wertvoller Kritik und Anregung unterstützte.

Herrn PD Dr.Dr.J.Ring danke ich für seine unermüdliche Bereitschaft zur Diskussion und die freundschaftliche Unterstützung im Verlauf der Arbeit.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen Fräulein R.Pfeiffer,Frau B.Kahn,Fräulein A.Holzer,Fräulein S.Pfeffer und Fräulein R.Ganser danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und die Anfertigung der Abbildungen.

Ganz besonders danke ich Herrn Dr.W.Richter und Frau Dr.H.Hedin für die freundschaftliche Zusammenarbeit und viele wertvolle Anregungen.

Lebenslauf

Familie: geboren am 12.9.1949 in Freiburg im Breisgau

Vater: Carl Seemann, Professor für Musik

Mutter: Sophie Seemann, geb. von Herrmann

Geschwister: cand.jur. Caspar Seemann und David Seemann

Schule: 1956-1960 Volksschule Freiburg-Günterstal

1960-1968 Goethe-Gymnasium Freiburg

18.6.1968 Abitur

Studium: 1969-1971 Universität Freiburg

1971/72 Universität Bonn

1972-1975 Universität Heidelberg

Prüfungen:

16.3.1970 naturwissenschaftliche Vorprüfung

1.10.1971 ärztliche Vorprüfung

16.6.1975 Staatsexamen

Beruf: August 1975 - Februar 1976 als Medizinalassistentin in der Abt. Innere Medizin (Chefarzt Prof. Dr. Heckner) am Zweckverband Krankenhaus Einbeck

März 1976 - Oktober 1976 als Medizinalassistentin (und 1 Monat als Assistenzärztin) in der Chirurgischen Abt. (Chefarzt Dr. Beier) am o.g. Krankenhaus

November 1976 - April 1979 als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Institut für chirurgische Forschung (Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel) im Team von Prof. Meßmer

April 1979 - Juli 1979 als Assistentin in der Allgemeinpraxis von PD Dr. Pillau

seit August 1979 freiberuflich tätig als Übersetzerin medizinischer Literatur

am 26.9.1980 Eheschließung mit Priv.Doz.Dr.med. Nikolaus Mendler